

Mémoire de Master  
Année 2

Mention Sciences de l'Univers, Environnement, Ecologie  
Spécialité Océanographie et Environnement Marin  
2011-2012

Université Pierre et Marie Curie  
Paris

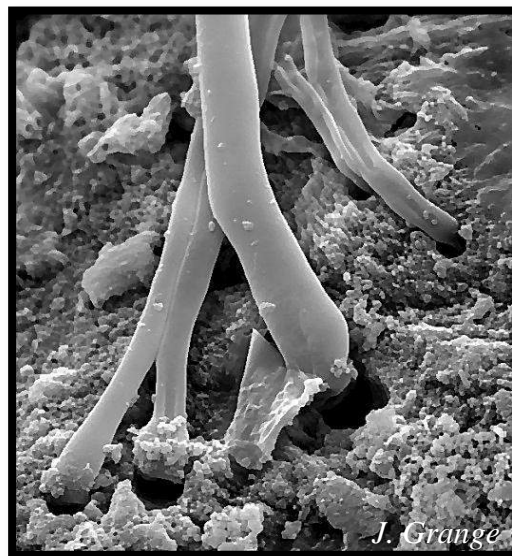
---

# **Effet *in situ* de l'acidification des océans sur la microflore perforante de substrats aragonitiques**

Julie Grange

Sous la direction d'Aline Tribollet  
Au sein du Laboratoire LOCEAN (UMR IRD/MNHN/CNRS/UPMC)  
Equipe Paleoproxus

Rapporteurs : Damien Cardinal et Franck Lartaud



# Sommaire

## Remerciements

## I-Introduction..... 1

## II-Matériel et méthodes ..... 5

### 2.1.-Zone d'étude..... 5

#### 2.1.1- Ile d'Ischia ..... 5

#### 2.1.2- Sites d'étude ..... 5

### 2.2.-Description de l'expérience..... 6

#### 2.2.1- Préparation des substrats et implantation ..... 6

#### 2.2.2- Description des substrats ..... 7

### 2.3.-Préparation des échantillons pour les analyses ..... 7

#### 2.3.1- Préparation de lames minces pétrographiques..... 8

#### 2.3.2- Préparation des échantillons pour l'observation au MEB ..... 8

### 2.4.-Détermination des différentes variables biologiques liées à la microflore perforante..... 9

#### 2.4.1- Description des épilithes et des communautés microperforantes .....10

#### 2.4.2- Profondeurs de pénétration des filaments microperforants.....10

#### 2.4.3- Abondance des filaments des microperforants .....11

#### 2.4.4- Surface bioérodée par les microperforants .....11

#### 2.4.5- Taux de microbioérosion ou dissolution biogénique .....11

### 2.5.-Analyses statistiques .....12

## III-Résultats..... 13

### 3.1.-Variabilité inter-site des paramètres environnementaux .....13

### 3.2.-Description des épilithes et de la communauté microperforante observée .....13

#### 3.2.1- Description des organismes épilithes couvrant la surface des substrats .....13

#### 3.2.2- Dissolution chimique et broutage .....13

#### 3.2.3- Diversité spécifique des microperforants .....14

### 3.3.-Distribution des filaments microperforants dans les substrats étudiés .....14

#### 3.3.1- Profondeurs de pénétration .....14

#### 3.3.2- Abondance des filaments microperforants.....15

### 3.4.-Surface bioérodée par la microflore perforante .....15

### 3.5.-Taux de bioérosion ou de dissolution biogénique .....15

## IV-Discussion..... 16

### 4.1.-Epilithes et communautés microperforantes.....16

### 4.2.-Distribution des filaments microperforants .....18

### 4.3.-Activité bioérosive des microperforants.....19

### 4.4.-Effet de l'acidification sur la microflore perforante de substrats aragonitiques .....20

## V-Conclusion et perspectives ..... 23

## VI-Références ..... 25

## Annexes

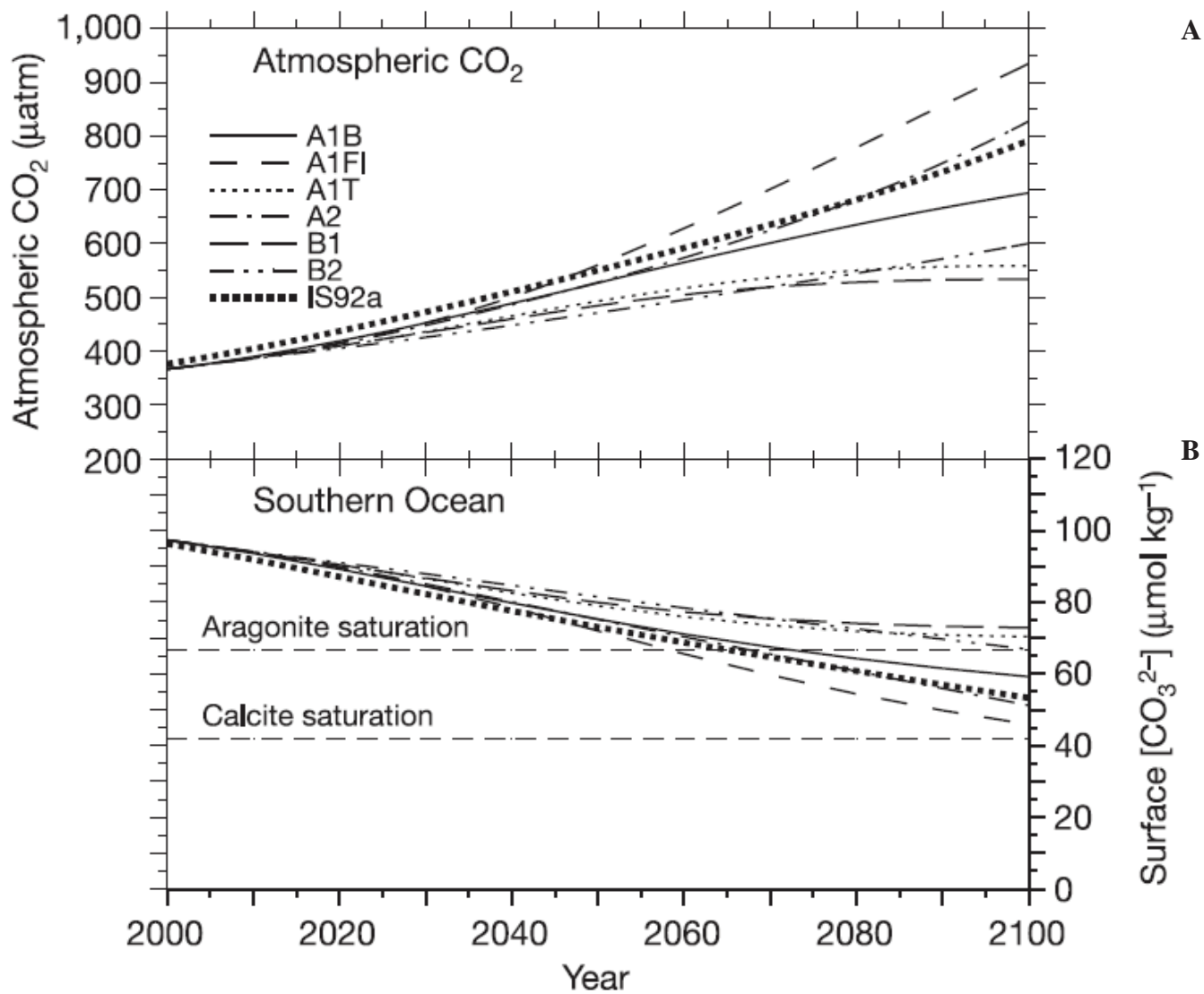
## **Remerciements**

Je tiens tout d'abord à remercier tout particulièrement le docteur Aline Tribollet qui m'a accueillie au sein de son équipe et permis de travailler sur un thème de recherche stimulant. Je remercie également le laboratoire LOCEAN qui a permis la réalisation de ce stage et m'a donnée accès à la plateforme ALIZES pour la réalisation d'observations au microscope électronique à balayage.

Merci à tous les techniciens, ingénieurs et chercheurs de l'équipe Paleoproxus de l'IRD de Bondy pour m'avoir accueillie, intégrée au sein de l'équipe ainsi que pour les différentes aides qu'ils ont pu m'apporter tout au long de ce stage.

Merci au docteur Riccardo Rodolfo-Metalpa (University of Plymouth, UK) pour l'implantation de l'expérience à Ischia, la collecte des substrats et les informations sur les sites de l'étude. Merci également au professeur Stjepko Golubic (Boston University, USA) pour sa précieuse aide à l'identification des microperforants.

Enfin un grand merci à tous ceux qui ont relu mon rapport et m'ont aidée à préparer l'oral.



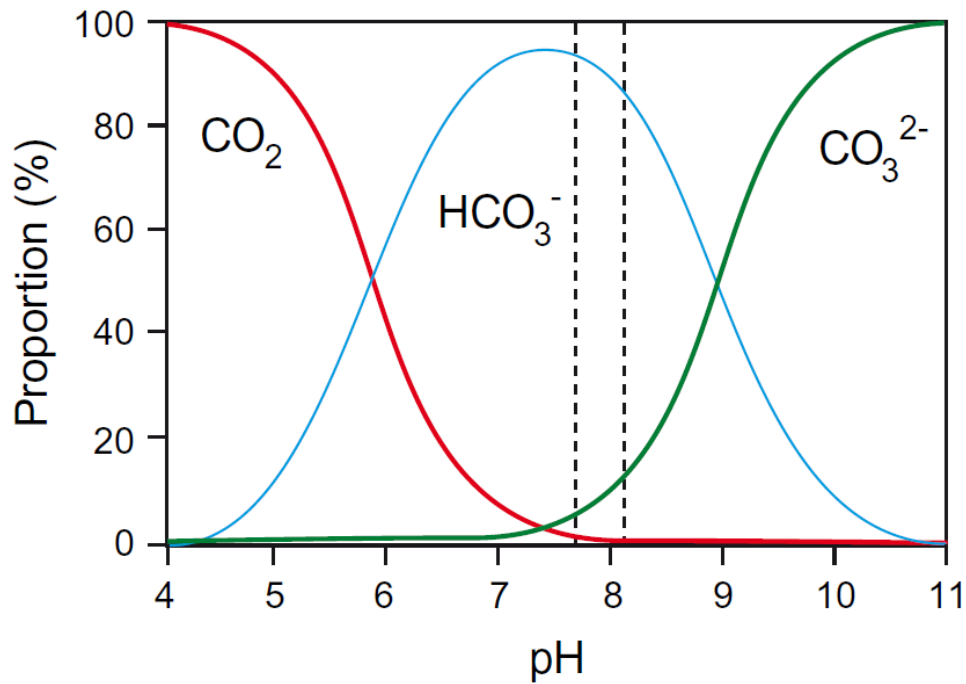
**Figure 1.** Prévision de la pression partielle en dioxyde de carbone dans l'atmosphère (A) et de la concentration en ions carbonates dans l'océan (B) selon les différentes hypothèses de l'IPCC à l'horizon 2100. (D'après Orr et *al.* (2005)).

## I- Introduction

L'utilisation de gaz et de carburants fossiles a conduit à l'augmentation des niveaux de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) dans l'atmosphère de près de 40% depuis l'ère préindustrielle (Sabine *et al.* 2004, Caldeira and Wickett 2005, Orr *et al.* 2005, Hoegh-Guldberg *et al.* 2007). Environ 30% de ce  $\text{CO}_2$  est absorbé par l'océan (Sabine *et al.* 2004). L'IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) prévoit une pression partielle en  $\text{CO}_2$  ( $p\text{CO}_2$ ) atmosphérique qui pourrait doubler d'ici la fin du siècle selon les scénarii (IPCC 2007) (Fig. 1) alors qu'elle est proche de 380 ppm actuellement (Orr *et al.* 2005, Hoegh-Guldberg *et al.* 2007). Or il y a une corrélation entre la  $p\text{CO}_2$  et le pH de l'eau de mer.

A un pH moyen de l'eau de mer proche de 8,1 (pH actuel moyen de l'océan), 90% du carbone inorganique est sous forme d'ion bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ), 9% sous forme de carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) et 1% sous forme de  $\text{CO}_2$  dissous (Fig. 2A, (MerMexGroup 2011)). Le  $\text{CO}_2$  atmosphérique réagit avec l'eau pour former de l'acide carbonique ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) qui peut se dissocier en ion bicarbonate en perdant un proton ( $\text{H}^+$ ) puis en ion carbonate en perdant deux protons (Fig. 2B) (Doney *et al.* 2009). L'augmentation du  $\text{CO}_2$  dissous dans l'océan conduit à l'augmentation des concentrations en ions bicarbonates et en protons, ce qui entraîne la diminution du pH ( $\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+]$ ) (Doney *et al.* 2009). La diminution du pH entraîne alors une diminution de la concentration en ions carbonates et de l'état de saturation ( $\Omega$ ) de l'eau de mer en carbonate de calcium (Fig. 2A et 2C) (Langdon *et al.* 2000). Ce processus est nommé « acidification des océans ». Certains modèles biogéochimiques du cycle du carbone prévoient une diminution de 0,2 à 0,4 unité pH d'ici la fin du siècle du fait de ce phénomène (Caldeira and Wickett 2005). L'état de saturation en carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) de l'eau de mer impacte les organismes calcifiants, et en particulier leur capacité à former leur test, leur squelette ou leur coquille (Orr *et al.* 2005, Kleypas *et al.* 2006, Gazeau *et al.* 2007, Anthony *et al.* 2008)). La calcification ou précipitation du  $\text{CaCO}_3$  (Fig. 2D) est en effet possible uniquement pour des  $\Omega$  supérieurs à 1 (Doney *et al.* 2009).

Il y a 100 ans en milieu tropical, l'état de saturation de l'eau de mer en aragonite ( $\Omega_{\text{arag}}$ ) était en moyenne de 4,6 ; aujourd'hui elle est proche de 4 et devrait être de l'ordre de 2,8 à la fin du siècle (Kleypas *et al.* 1999). Ce changement entraînerait une diminution du taux de calcification de près de 60% d'ici à 2100 chez certaines espèces de coraux scléactiniaires comme *Acropora cervicornis* Lamarck 1816 (Guinotte and Fabry 2008) qui est une espèce en



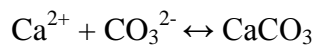
**A**



**B**

$$\Omega = (\text{Ca}^{2+} \times \text{CO}_3^{2-}) / K'_{\text{sp}}$$

**C**



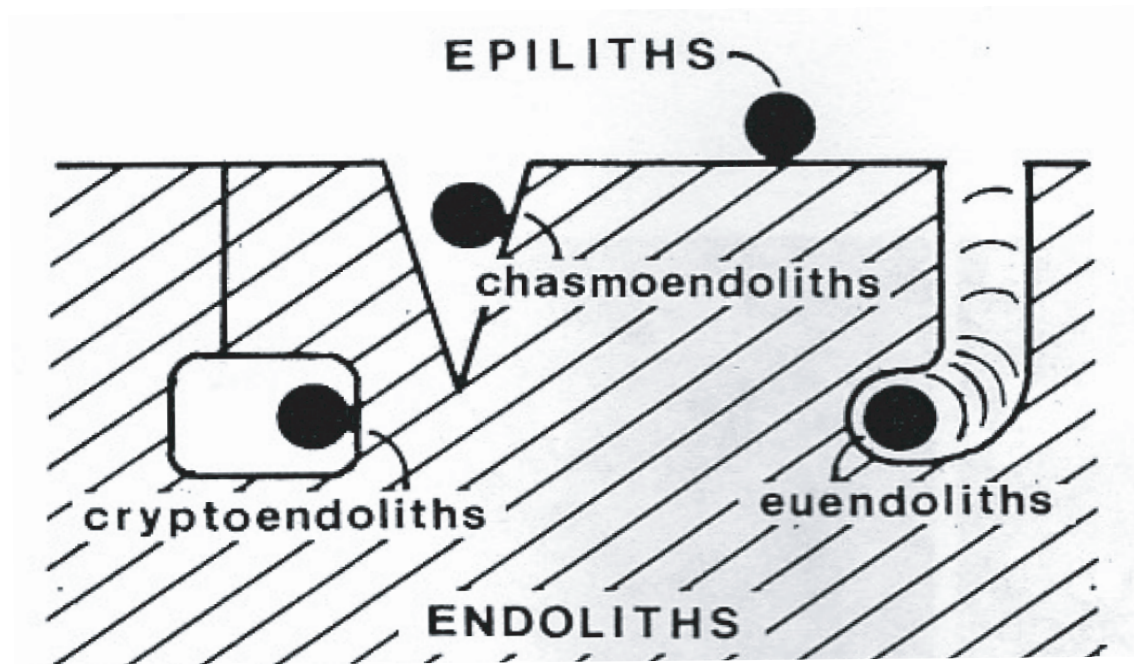
**D**

**Figure 2.** Proportion de différents composés carbonés (ions carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ) et dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ )) dans l'eau de mer suivant le pH (**A**) (d'après The MerMex Group, 2011) et équations du système des carbonates. **B**: Dissolution et incorporation du dioxyde de carbone dans l'eau de mer, **C**: calcul de l'état de saturation de l'eau en un minéral du carbonate de calcium (calcite ou aragonite), **D**: formation/dissolution du carbonate de calcium.  $\text{CO}_{2(\text{Atm})}$  : dioxyde de carbone atmosphérique,  $\text{CO}_{2(\text{Aq})}$  : dioxyde de carbone dissous dans l'eau de mer,  $\text{H}_2\text{O}$  : eau de mer,  $\text{H}_2\text{CO}_3$  : acide carbonique,  $\text{H}^+$  : protons,  $\Omega$  : état de saturation de l'eau de mer en calcite ou en aragonite,  $\text{Ca}^{2+}$  : calcium,  $K'_{\text{sp}}$  : produit de la solubilité spécifique d'une des deux phases minérales du carbonate de calcium.

voie de disparition. En moyenne, le taux de calcification corallien devrait diminuer de 30% d'ici 2100 d'après des expériences menées en conditions contrôlées (Kleypas et al. 1999). *In situ*, il semblerait que la calcification corallienne ait diminué de 21% au niveau de la Grande Barrière de corail (Australie) entre 1988 et 2003 (Cooper et al. 2008). Kuffner et al. (2008) ont par ailleurs mis en évidence la diminution du taux de calcification des algues corallines, autres principaux constructeurs de récifs, sous des  $p\text{CO}_2$  élevées (765 ppm, prédiction pour 2100 de l'IPCC (Orr et al. 2005, IPCC 2007)).

Tous les organismes calcifiants ne répondent cependant pas de la même façon à l'acidification (Guinotte and Fabry 2008). *Coccolithus pelagicus* Schiller 1930, une espèce de l'ordre des Coccolithophoridés, ne réagirait ni positivement ni négativement à une diminution du pH (Langer et al. 2006) alors que d'autres espèces du même genre pourraient voir leur calcification diminuer de 66% (Riebesell et al. 2000). Au sein du même genre corallien *Porites*, la diminution du taux de calcification à  $\text{pH} = 7,76$  peut varier de 25 à 49% selon l'espèce considérée (Guinotte and Fabry 2008). Certaines espèces semblent, en outre, moduler leur réponse à l'acidification de l'eau de mer en fonction d'autres facteurs environnementaux tels que la température. Le taux de calcification de l'espèce corallienne *Stylophora pistillata* Esper 1797, peut ainsi varier de 0 à 50% selon que la température varie de 25 à 28°C pour un même pH de 7,91 (Reynaud et al. 2003).

En général, l'impact de l'acidification des océans a été étudié sur les coraux, les algues corallines, les coccolithophoridés et les foraminifères (Orr et al. 2005, Guinotte and Fabry 2008, Doney et al. 2009, Silverman et al. 2009, Crook et al. 2011, Touratier and Goyet 2011). Quelques études ont également porté sur des mollusques, en particulier sur les bivalves (Gazeau et al. 2007). Gazeau et al. (2007) ont montré une importante diminution du taux de calcification (10 à 25%) des moules *Mytilus edulis* Linné 1758, et *Crassostrea gigas* Thunberg 1793, après une exposition de deux heures à des pH faibles (7,3). Toutefois, Berge et al. (2006) ont montré qu'après une exposition de deux mois, les moules pouvaient au contraire s'adapter à une diminution du pH (de 8,1 à 7,4) en régulant leur métabolisme. Cette dernière expérience a été confirmée par Rodolfo-Metalpa et al. (2011) lors d'une expérience réalisée *in situ* au niveau de résurgences de  $\text{CO}_2$  à Ischia en Italie. Kurihara et al. (2008) ont enfin observé un impact négatif de l'acidification de l'eau de mer sur les stades larvaires des moules (malformation).



**Figure 3.** Description des différents organismes colonisant la surface (épilithes) et l'intérieur (endolithes) de substrats durs (d'après Golubic et *al.* (1981)). Les microperforants, c.a.d. les micro-organismes qui pénètrent activement dans les substrats durs calcaires pour former des galeries, sont aussi appelés les eu-endolithes. Les chasmo- et les crypto-endolithes occupent les crevasses, fissures ou autres pores naturels dans les substrats durs.

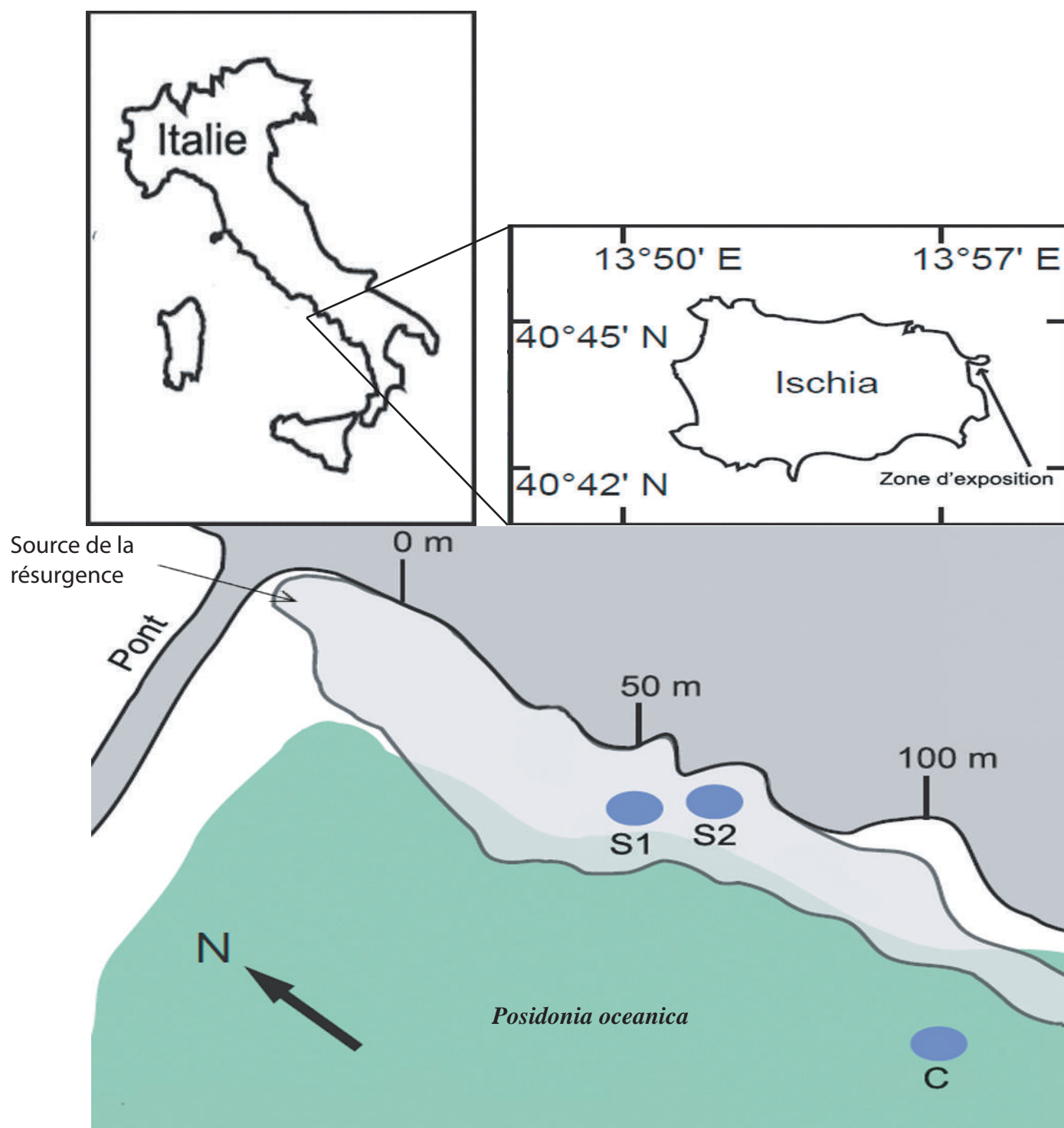


Outre l'impact de l'acidification de l'eau de mer sur les taux de calcification des organismes calcifiants, celle-ci influence les taux de dissolution des substrats carbonatés. Il existe différents processus de dissolution : la dissolution chimique due à la composition chimique de l'eau de mer (lorsque l'état de saturation de l'eau de mer en carbonate de calcium ( $\Omega$ ) est inférieur à 1) (Doney et al. 2009), celle résultant de l'activité bactérienne (Andersson and Mackenzie 2012), et la dissolution biogénique due à l'activité d'organismes autres que les bactéries. En milieu côtier, rares sont les conditions environnementales qui conduisent à la dissolution chimique des substrats carbonatés (les modèles de l'IPCC ne prédisent pas dans un avenir proche un  $\Omega$  inférieur à 1 (Kleypas et al. 1999, IPCC 2007)). A l'inverse les sédiments carbonatés sont concernés par la dissolution chimique due à la reminéralisation de la matière organique par les bactéries (Andersson et al. 2005, Andersson and Mackenzie 2012) et cela quel que soit le milieu (tropical ou autre). Dans certains milieux naturels, il a été montré que la dissolution chimique des carbonates pourrait augmenter de 25% d'ici la fin du siècle du fait de l'acidification des océans (Andersson et al. 2007). En revanche, tous les types de substrats calcaires, de la roche calcaire aux sédiments, en incluant les coquilles de mollusques et les squelettes coralliens, sont concernés par la dissolution biogénique (Tribollet 2008b, Tribollet and Golubic 2011). Cette dernière est principalement due à l'activité métabolique de la microflore perforante (Tribollet 2008a, Tribollet et al. 2011) et une étude récente a montré qu'elle pourrait augmenter de 50% du fait de l'acidification des océans (Tribollet et al. 2009).

La microflore perforante, ou micro-organismes eu-endolithes, (Fig. 3, (Golubic et al. 1981)) est composée de phototrophes (cyanobactéries, chlorophycées, et rhodophycées) et d'organotrophes (champignons) perforants. Les eu-endolithes se présentent généralement sous forme de filaments et creusent activement des galeries dans les substrats carbonatés grâce à un processus de dissolution chimique encore peu connu (Garcia-Pichel 2006, Tribollet 2008a). Le mécanisme le plus probable chez les phototrophes est l'utilisation de pompes à calcium liées à l'activité photosynthétique des filaments (Garcia-Pichel et al. 2010). Les microperforants forment des communautés qui se succèdent au cours du temps (Gektidis 1999). Les communautés dites « immatures » composées d'espèces pionnières à courte durée de vie, comme la cyanobactérie *Mastigocoleus testarum* Lagerheim 1886 et/ou la chlorophycée *Phaeophila dendroides* Batter 1902, s'installent en premier sur les substrats vierges. Ces communautés sont suivies progressivement par des espèces de communautés dites « matures » comme la chlorophycée *Ostreobium quekettii* Bornet et Flahault 1889 et/ou la cyanobactérie *Plectonema terebrans* Bornet et Flahault 1892, après quelques mois

d'exposition à la colonisation (Chazottes et al. 1995, Le Campion-Alsumard et al. 1995, Gektidis 1999, Tribollet and Golubic 2005, Tribollet 2008b). Dans les substrats carbonatés morts, la microflore perforante est un producteur primaire important (Tribollet et al. 2006), un bioérodeur majeur (Tribollet and Golubic 2005) et un important contributeur à la sédimentation (Chazottes et al. 1995, Perry 2000). Cette flore est fortement influencée par divers facteurs environnementaux, notamment l'hyper-sédimentation qui tend à réduire les taux de dissolution des carbonates (Tribollet 2008b), l'eutrophisation et l'acidification de l'eau, qui au contraire, tendent à augmenter les taux de dissolution biogénique (Carreiro-Silva et al. 2005, Tribollet et al. 2009). En conditions contrôlées et à court terme, Tribollet et al. (2009) ont montré en effet que l'augmentation de la  $p\text{CO}_2$  stimulait la croissance de chlorophycées perforantes (genre *Ostreobium*) dans des squelettes coralliens et donc les taux de dissolution biogénique. Mais qu'en est-il en milieu naturel et dans d'autres substrats carbonatés?

L'objectif majeur de la présente étude est de mettre en évidence l'impact de l'acidification de l'eau de mer en conditions naturelles (*in situ*) et au bout de six mois sur la microflore perforante colonisant différents substrats carbonatés. Afin de répondre à l'objectif de cette étude, plusieurs paramètres biologiques ont été mesurés dans deux substrats aragonitiques exposés à différentes conditions de pH. La mesure de ces paramètres permettra de montrer l'impact de l'acidification de l'eau de mer sur (1) la communauté de microperforants, (2) leur distribution dans les substrats étudiés ici et (3) leur activité bioérosive. Pour atteindre cet objectif et sachant qu'il est très difficile d'avoir facilement accès à des sites tropicaux « acidifiés naturellement », une expérience avec des squelettes coralliens et des coquilles de bivalves a été réalisée en mer Méditerranée, à proximité de l'île d'Ischia en Italie. Cette île présente en effet des résurgences d'eau contenant de fortes concentrations en  $\text{CO}_2$  du fait d'une importante activité volcanique (Hall-Spencer et al. 2008). Elle offre ainsi un modèle d'étude des effets de l'acidification de l'eau de mer sur les organismes calcifiants (Hall-Spencer et al. 2008, Martin et al. 2008, Hall-Spencer and Rodolfo-Metalpa 2009, Cigliano et al. 2010, Lombardi et al. 2011, Rodolfo-Metalpa et al. 2011) et non calcifiants comme la microflore perforante.



**Figure 4.** Carte des résurgences de dioxyde de carbone (panache représenté sous forme du nuage gris clair) à Castello Aragonese (Ile d'Ischia, Italie). C : site contrôle (pH = 8,02). S1 : site dans la zone de résurgence (pH = 7,24). S2 : second site dans la zone de résurgence (pH = 7,44).

## II- Matériel et méthodes

### 2.1- Zone d'étude

#### 2.1.1- Ile d'Ischia

La zone d'étude est située près de l'île d'Ischia en Italie. Cette île est localisée en Mer Tyrrhénienne à 40°43,84' N et 13° 57,08' E (Fig. 4). Les résurgences de CO<sub>2</sub> présentes autour de cette île ont été décrites pour la première fois en 2008 par [Hall-Spencer et al. \(2008\)](#). Ce sont des résurgences de faible profondeur ([Tedesco 1996](#)) et bordées par un herbier de *Posidonia oceanica* Delile 1813 (Posidonie). Ces résurgences sont caractérisées par des gaz contenant 90 à 95% de CO<sub>2</sub>, 3 à 6% d'azote, 0,6 à 0,8% d'oxygène, 0,2 à 0,8% de méthane ([Hall-Spencer et al. 2008](#)). Ces gaz sont émis avec un débit de  $1,4 \cdot 10^6 \text{ l.j}^{-1}$  à température et à pression atmosphérique ambiantes ([Hall-Spencer et al. 2008](#), [Lombardi et al. 2011](#)). En réalité, les résurgences de CO<sub>2</sub> sont relativement abondantes en Méditerranée ([Dando et al. 1999](#)) mais la plupart contiennent des gaz toxiques comme le sulfure d'hydrogène ce qui n'est pas le cas à Ischia ([Hall-Spencer et al. 2008](#), [Cigliano et al. 2010](#)). Le modèle « Ischia » semble donc parfait pour l'étude des effets de l'acidification de l'eau de mer sur les organismes calcifiants et non calcifiants.

#### 2.1.2- Sites d'étude

Trois sites, situés à l'est de l'île, ont été choisis selon un gradient de pH (site C ou « contrôle », sites S1 et S2 dont l'eau de mer est acidifiée par les résurgences de CO<sub>2</sub>) (Fig. 4). Ces sites ont été sélectionnés en se basant sur les données rapportées par [Rodolfo-Metalpa et al. \(2011\)](#). Ces auteurs ont, en effet, commencé une étude sur la résistance de coraux et de mollusques à l'acidification en mars 2008 sur ces mêmes sites. En 2008, le site C présentait un pH de  $8,06 \pm 0,07$  ( $p\text{CO}_2 \approx 430 \text{ ppm}$ ), S1 un pH de  $7,6 \pm 0,2$  ( $p\text{CO}_2 \approx 1720 \text{ ppm}$ ) et S2 un pH de  $7,84 \pm 0,21$  ( $p\text{CO}_2 \approx 936 \text{ ppm}$ ) (voir Annexe 1). Leur expérience et le suivi environnemental se sont poursuivis en 2009 et ont permis la réalisation de la présente étude. Les paramètres environnementaux (voir Annexe 2) (température, pH, alcalinité totale,  $p\text{CO}_2$ , concentration en dioxyde de carbone, carbonate, bicarbonate, carbone total, état de saturation de l'eau de mer en calcite et en aragonite) enregistrés durant la présente expérience sont détaillés dans le Tableau 1 et sont issus de l'étude de [Rodolfo-Metalpa et al. \(2011\)](#). Afin

**Tableau 1.** Paramètres environnementaux mesurés par Rodolpho-Metalpa et *al.* (2011) en 2008 et durant la présente étude de mars à septembre 2009 au niveau de chaque site : température (T, °C), pH, alcalinité totale (At,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), pression partielle en  $\text{CO}_2$  ( $p\text{CO}_2$ ,  $\mu\text{Atm}$ ), concentration en dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), en carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), en bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), et en carbone total (Ct,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), saturation en calcite ( $\Omega_{\text{cal}}$ ) et saturation en aragonite ( $\Omega_{\text{arag}}$ ). (D'après Rodolpho-Metalpa et *al.* (2011))

Période		2008		Mars-Septembre 2009	
n		(n=23)		(n=19)	
Paramètres	Sites	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
T °C	C	20,6	3,4	21,2	3,6
	S1	20,5	3,4	20,4	3,4
	S2	20,5	3,4	20,9	3,7
pH	C	8,06	0,07	8,02	0,03
	S1	7,60 <sup>a</sup>	0,2	7,24 <sup>a</sup>	0,35
	S2	7,84 <sup>a,b</sup>	0,21	7,44 <sup>a</sup>	0,8
At $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	C	2578	14	2578	14
	S1	2575	15	2571	19
	S2	2577	15	2573	13
$p\text{CO}_2$ $\mu\text{Atm}$	C	430	79,89	477	43
	S1	1720 <sup>a</sup>	875,33	5574 <sup>a</sup>	4485
	S2	936 <sup>a,b</sup>	479,75	3619 <sup>a</sup>	3259
$\text{CO}_2$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	C	13,5	2,54	14,7	1,9
	S1	55,3 <sup>a</sup>	29,49	174,4 <sup>a</sup>	139,2
	S2	28,7 <sup>a,b</sup>	13,89	112,3 <sup>a</sup>	103,2
$\text{CO}_3^{2-}$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	C	246	36	235	29
	S1	111 <sup>a</sup>	43	61 <sup>a</sup>	38
	S2	159 <sup>a,b</sup>	47	92 <sup>a,b</sup>	44
$\text{HCO}_3^-$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	C	1980	74	2014	61
	S1	2310 <sup>a</sup>	103	2425 <sup>a</sup>	92,1
	S2	2084 <sup>a,b</sup>	210	2352 <sup>a,b</sup>	110
Ct $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	C	2240	46	2264	34
	S1	2475 <sup>a</sup>	87	2661 <sup>a</sup>	181
	S2	2356 <sup>a,b</sup>	88	2571 <sup>a</sup>	185
$\Omega_{\text{cal}}$	C	5,77	0,73	5,44	0,61
	S1	2,58 <sup>a</sup>	1	1,39 <sup>a</sup>	0,83
	S2	3,96 <sup>a,b</sup>	1,11	2,17 <sup>a,b</sup>	1,03
$\Omega_{\text{arag}}$	C	3,73	0,46	3,57	0,43
	S1	1,69 <sup>a</sup>	0,66	1,00 <sup>a</sup>	0,6
	S2	2,59 <sup>a,b</sup>	0,72	1,42 <sup>a</sup>	0,67

<sup>a</sup> statistiquement différent de C, <sup>b</sup> statistiquement différent de S1

d'étudier l'impact de l'acidification sur la microflore perforante de substrats aragonitiques, les facteurs environnementaux les plus pertinents sont le pH, la pression partielle de CO<sub>2</sub> ainsi que l'état de saturation de l'eau de mer en aragonite. D'après les données rapportées par [Rodolfo-Metalpa et al. \(2011\)](#) il apparaît que la composition chimique de l'eau au niveau de chaque site a évolué entre 2008 et 2009. De mars à septembre 2009, les paramètres environnementaux étaient les suivants : C pH =  $8,02 \pm 0,03$  ( $p\text{CO}_2 \approx 477$  ppm); S1 pH =  $7,24 \pm 0,35$  ( $p\text{CO}_2 \approx 5574$  ppm) et S2 pH =  $7,44 \pm 0,8$  ( $p\text{CO}_2 \approx 3619$  ppm) (Tableau 1). Pour cette même période d'étude l'état de saturation de l'eau de mer en aragonite était respectivement de  $3,57 \pm 0,43$ ,  $1 \pm 0,6$  et  $1,42 \pm 0,67$  pour les sites C, S1 et S2 (Tableau 1).

Le site C est situé au milieu de l'herbier de Posidonie (Fig. 4). C'est un site rocheux caractérisé par une forte richesse spécifique (entre autre algues encroûtantes, oursins, patelles, bernacles et macroalgues ([Hall-Spencer et al. 2008](#), [Martin et al. 2008](#), [Hall-Spencer and Rodolpho-Metalpa 2009](#))). Les sites S1 et S2 se situent en bordure de l'herbier, à proximité des résurgences de CO<sub>2</sub> (Fig. 4) et sont caractérisés par des graviers et des cailloux abritant de nombreuses espèces de macroalgues et très peu d'organismes calcifiants ([Hall-Spencer et al. 2008](#)).

## 2.2- Description de l'expérience

### 2.2.1- Préparation des substrats et implantation

Des substrats calcaires morts de deux types ont été sélectionnés pour l'étude: le squelette du corail scléractiniaire massif *Porites lobata* Dana 1846 (Fig. 5A) et la coquille du bivalve *Callista chione* Linné 1758, de la famille des vénéridés (Fig. 5B). Ils ont été placés à 1 m de profondeur en triplicats au niveau de chaque site d'étude (Fig. 5C) et ont été exposés à la colonisation par la microflore perforante pendant six mois, de mars à septembre 2009. Le squelette corallien provient de Nouvelle-Calédonie. Il a d'abord été découpé à la scie en petits blocs à partir d'une colonie vivante en bonne santé (1,5 cm (h) x 2,5 cm (L) x 2,5 cm (l)). Seuls les blocs ne présentant pas de bioérosion externe ont été retenus puis passés à la javel afin de retirer toute trace de matière organique. Les coquilles proviennent d'Europe (Mer du Nord). Elles ont été vidées puis javellisées. Les blocs de corail et les coquilles ont ensuite été inclus dans une résine de fixation avant d'être installés sur la côte d'Ischia par le collègue R. Rodolfo-Metalpa (Fig. 5C). Une partie seulement des blocs et les faces internes des coquilles

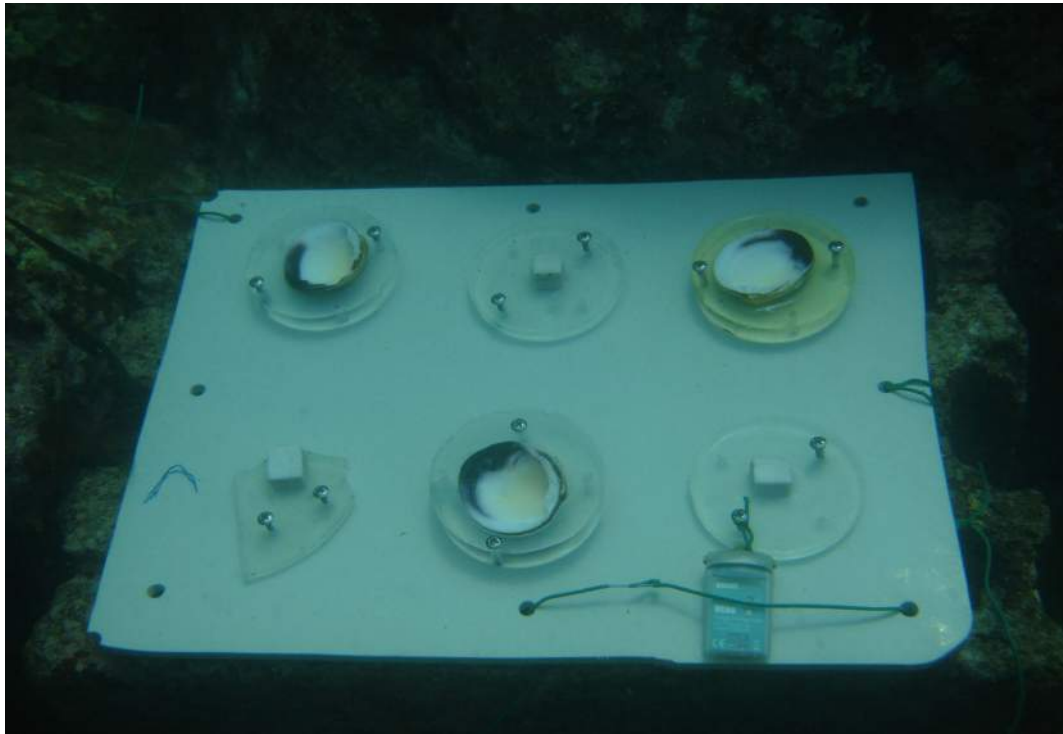




**A**



**B**



**C**

**Figure 5.** Photographies des deux substrats carbonatés étudiés et du dispositif expérimental mis en place à Ischia en mars 2009. **A** : *Porites lobata* (photo d'A. Tribollet), **B** : *Callista chione* (photo issu de [www.kroatien-lexikon.de](http://www.kroatien-lexikon.de)), **C**: A chaque site d'étude une plaque de PVC comportant trois blocs de corail (*Porites lobata*) et trois coquilles (*Callista chione*) a été fixée au substrat benthique (photo de R. Rodolfo-Metalpa).

ont donc été exposées à la colonisation par les microperforants (la face externe des coquilles ayant été naturellement exposée aux bioérodeurs avant l'implantation). La surface des substrats était orientée vers la lumière durant l'exposition à la colonisation.

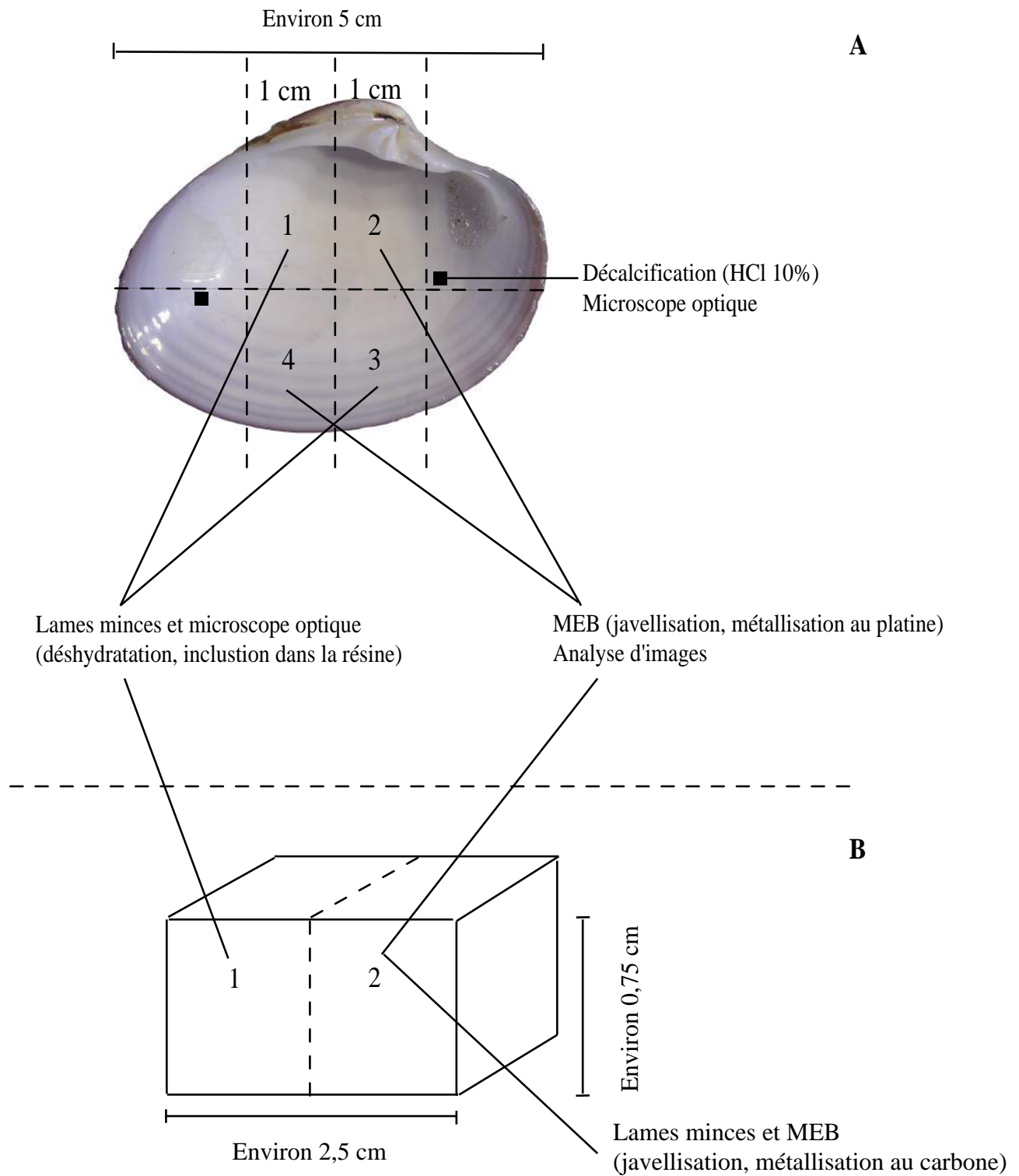
### 2.2.2- Description des substrats

Les substrats calcaires choisis sont tous les deux composés d'aragonite (Wisshak et al. 2011, Shaw et al. 2012) mais diffèrent de par leur porosité et leur densité. En effet le corail étudié présente une porosité de l'ordre de 53% (Tribollet 2008b) et une micro-densité d'environ  $2,3 \text{ g.cm}^{-3}$  (Tribollet et al. 2009) alors que pour les coquilles, la porosité est nulle et la micro-densité de  $3,75 \text{ g.cm}^{-3}$  en moyenne (Wisshak and David 2006). Le genre *Porites* est un modèle corallien couramment utilisé pour l'étude de la bioérosion en milieu récifal (Chazottes et al. 1995, Chazottes et al. 2002, Tribollet et al. 2006, Tribollet et al. 2009). *Callista chione* est une espèce très commune et commerciale, abondante en Europe et en Méditerranée (Ezgeta-Balic et al. 2011) et qui a déjà été utilisée dans de précédentes études sur la bioérosion (Wisshak et al. 2005, Wisshak and David 2006, Wisshak 2008, Wisshak et al. 2011).

### 2.3- Préparation des échantillons pour les analyses

Après 6 mois d'exposition à la colonisation par la microflore perforante, les échantillons (coraux et coquilles) ont été collectés et conservés dans 4% de formaldéhyde (mélange réalisé avec de l'eau de mer et du borax pour être tamponné et éviter toute dissolution chimique potentielle) jusqu'à leur analyse. En laboratoire, les échantillons ont été rincés plusieurs fois à l'eau claire puis découpés en plusieurs morceaux (Fig. 6). Une partie des morceaux a été utilisée pour la préparation de lames minces pétrographiques en vue de la détermination des espèces microperforantes, de la profondeur de pénétration de leurs filaments dans les substrats et de leur abondance. Une autre partie des morceaux a été observée au microscope électronique à balayage (MEB) afin de déterminer la surface bioérodée à la surface des substrats. Enfin, de petits éclats ont été décalcifiés afin de compléter les observations d'espèces microperforantes réalisées à partir des lames minces pétrographiques (Fig. 6). Le reste des morceaux a été préservé dans le formaldéhyde en vue d'analyses complémentaires ultérieures (si nécessaire).





**Figure 6.** Schéma de la procédure d'analyse des substrats exposés à la microflore perforante durant 6 mois.  
**A:** Coquille de *Callista chione*, **B:** Bloc de *Porites lobata* après retrait de la résine de fixation. MEB: Microscopie Electronique à Balayage

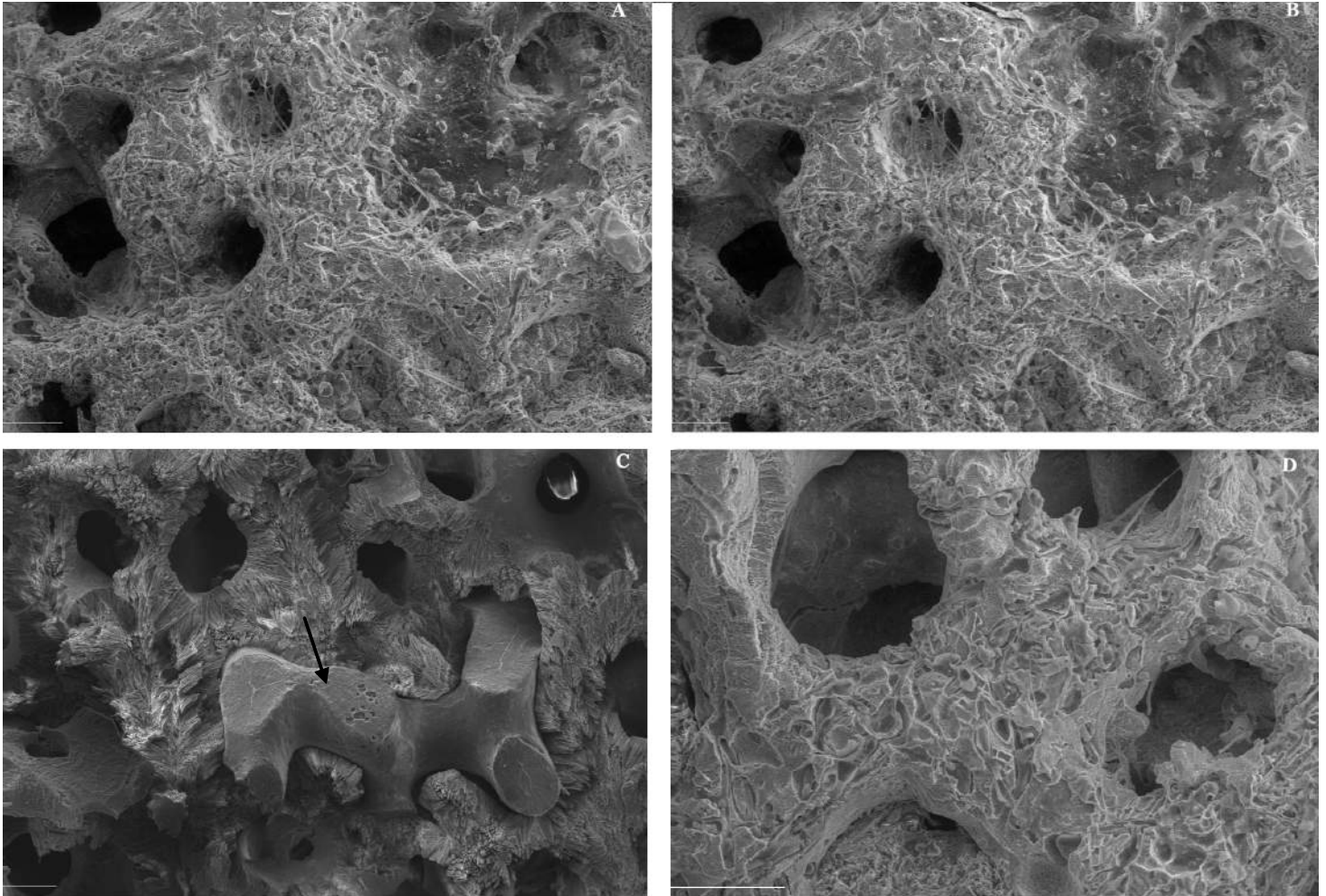
### *2.3.1- Préparation de lames minces pétrographiques*

Afin de déterminer les espèces microperforantes présentes, la profondeur de pénétration de leurs filaments dans les substrats et leur abondance, des lames minces pétrographiques ont été préparées à partir d'une partie des blocs de corail et des coquilles selon le protocole utilisé par Tribollet *et al.* (2002) (Fig. 6). Pour réaliser ces lames, les échantillons ont été inclus dans une résine d'araldite (Durcupan ACM Fluka). Ils ont été préalablement déshydratés (la résine est en effet hydrophobe) en les traitant avec plusieurs bains d'éthanol et d'acétone : 50 % puis 100 % d'éthanol durant une heure et deux heures respectivement, puis deux bains d'acétone pure d'une heure et d'une nuit. L'inclusion à proprement parlé commence par une imprégnation avec un bain mixte d'acétone et de résine (30/70) de huit heures, suivi d'un bain de résine pure avec un passage de 15 min à l'étuve à 60 °C. Après ce dernier bain les échantillons ont été placés dans des moules en silicone et recouverts de résine pure puis mis à l'étuve à 60 °C durant au moins deux jours (le temps nécessaire à la polymérisation de la résine).

Une fois la résine polymérisée, les échantillons ont été découpés en plusieurs sections d'environ 1 mm d'épaisseur à l'aide d'une scie linéaire (IsoMet 5000, Buehler). Les sections ont été collées sur des portes lames avec une goutte d'araldite et laissées à polymériser à l'étuve à 60°C. Elles ont ensuite été polies sur un tapis de polissage (Beta Grinder-Polisher, Buehler) afin d'obtenir une épaisseur de quelques micromètres. Afin d'observer les filaments microperforants, les sections ont été légèrement décalcifiées avec une goutte d'HCl à 10% pendant environ 10 secondes, puis colorées au bleu de Toluidine après un bref rinçage à l'eau distillée. La coloration permet de révéler les filaments microperforants (couleur violette) en place dans les substrats puisque le bleu de Toluidine se fixe sur toute matière organique. La lame mince est alors terminée, une lamelle y a été ajoutée afin de préserver l'intégrité de la surface à observer (grâce à une goutte d'araldite qui polymérise à l'étuve à 60°C). Les lames sont ensuite observées au microscope optique (Eclipse LV100, Nikon).

### *2.3.2- Préparation des échantillons pour l'observation au Microscope Electronique à Balayage (MEB)*

Afin d'estimer la surface bioérodée par les microperforants, des observations au MEB de la surface des substrats est nécessaire. Dans ce but, l'autre partie des morceaux coralliens

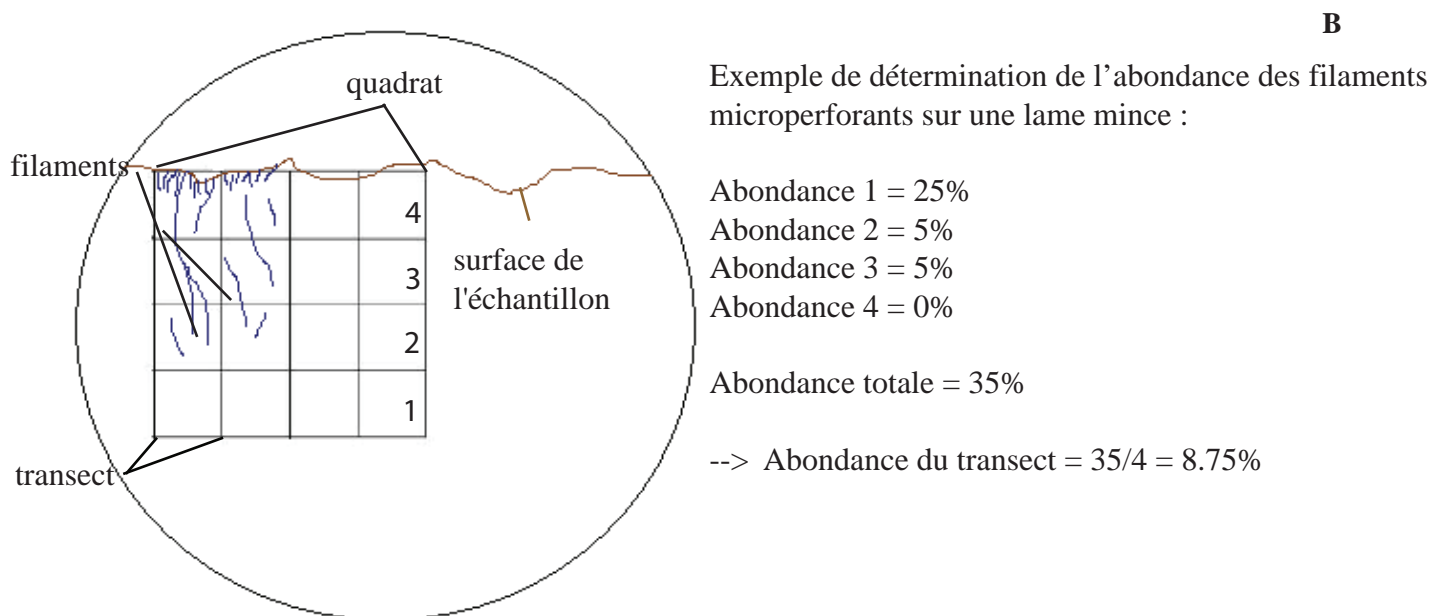
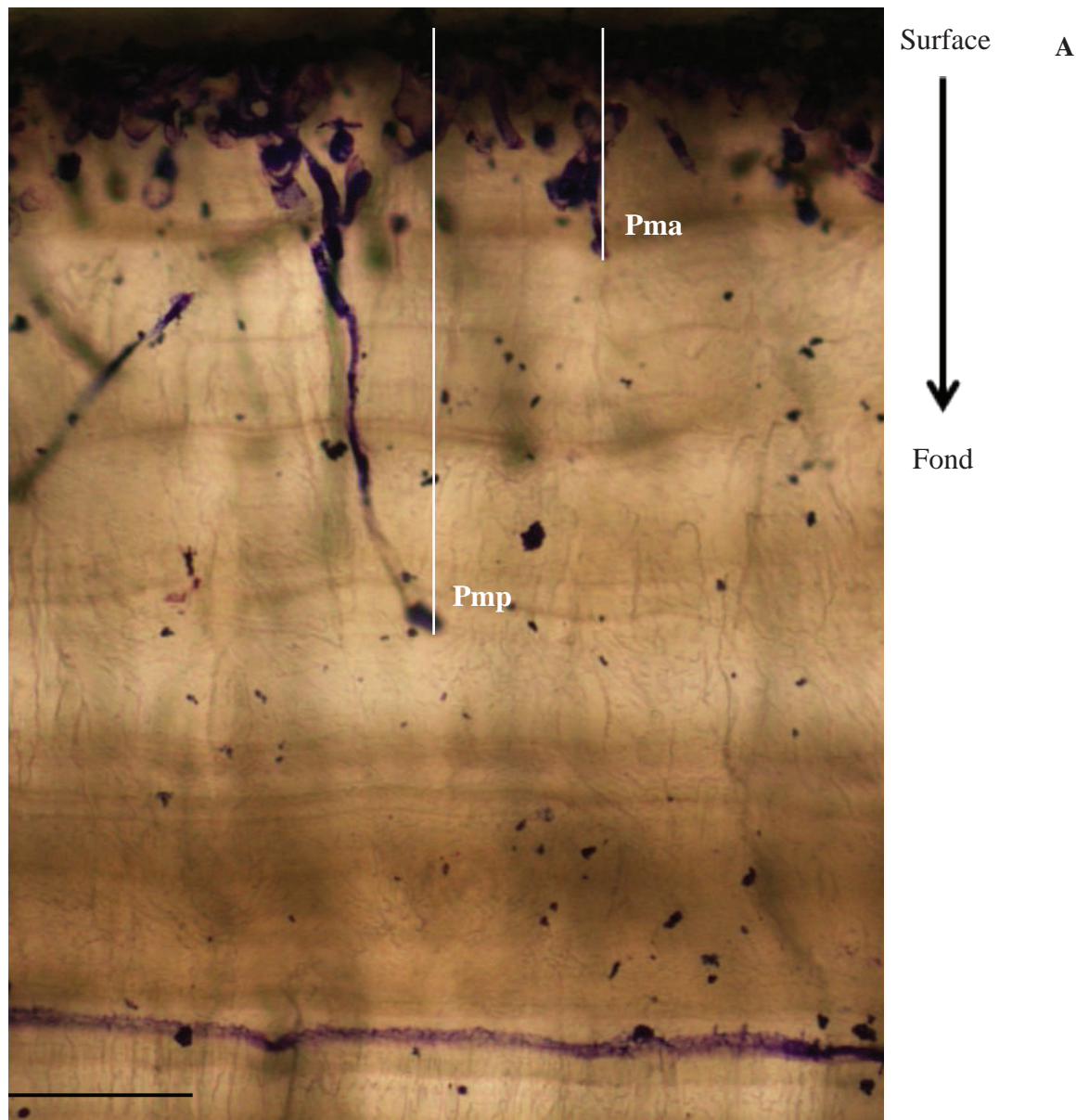


**Figure 7.** Photographies prises au microscope électronique à balayage (MEB) de la surface d'un bloc de corail après différents traitements. **A:** Surface avant traitement, recouverte de matière organique, **B:** Surface après passage au four à 150°C. La matière organique est toujours présente en grande quantité. **C:** Surface après passage au four à 350°C pendant 10 min recouverte de résine (indiquée par une flèche sur la photo), **D:** Surface après brossage léger. Le brossage a enlevé la couche superficielle du substrat. Barre d'échelle = 100µm.

et des coquilles a alors été javellisée durant au moins dix jours, avec un changement des bains plusieurs fois par jour, afin de retirer la matière organique présente à la surface et à l'intérieur des substrats (organismes épilithes et endolithes, sédiments, etc.) (Tribollet et al. 2002). Les échantillons ont ensuite été rincés plusieurs fois à l'eau distillée et passés au sonicateur (Elmasonic S15, ELMA) afin de retirer au maximum les cristaux de javel, le reste de matière organique et d'éventuels sédiments. Une fois séchés, les échantillons ont été métallisés au platine et observés au MEB (EVO LS 15, ZEISS). Toutes les observations faites au MEB ont été réalisés à 15KV et avec une distance de travail de 10 mm.

#### 2.4- Détermination des différentes variables biologiques liées à la microflore perforante

Afin de mettre en évidence l'impact de l'acidification sur la microflore perforante des variables biologiques sont mesurées. Ces variables ont été essentiellement obtenues à partir de l'analyse des coquilles de *Callista chione*. Des problèmes méthodologiques ont, en effet, empêché une analyse complète de la microflore perforante dans les échantillons coralliens, en particulier la quantification des taux de bioérosion. Le premier problème a concerné la préparation de lames minces de qualité. La résine utilisée pour fixer les blocs coralliens au site d'étude s'est dissoute dans l'éthanol et/ou l'acétone ce qui a entraîné la déformation de la base des squelettes coralliens. Seules quelques rares lames minces ont pu être préparées. Elles étaient exploitables mais de qualité insuffisante pour les observations au microscope optique. Le deuxième problème a concerné l'analyse au microscope électronique à balayage (MEB) de la surface des blocs coralliens. Pour une observation optimale des galeries de perforation au MEB, il faut que la matière organique soit éliminée à plus de 80% or les différents bains de javel n'ont pas permis l'élimination de cette matière organique sur les blocs coralliens issus du site contrôle. Différentes méthodes supplémentaires ont été mises en œuvre mais sans succès: calcination à 150°C puis 350°C, brossage à la brosse à dent souple, et sonication plus longue. La figure 7 présente le résultat des différents traitements appliqués aux blocs coralliens. Finalement, seules quelques observations au MEB ont pu être faites sur des lames minces (après une métallisation au carbone) réalisées à partir des blocs coralliens (3 lames par site). Les résultats de ces observations seront présentés brièvement ci-après.



**Figure 8.** Détermination des profondeurs de pénétration des filaments microperforants et de leur abondance dans les substrats carbonatés étudiés. **A:** Photographie prise au microscope optique d'une lame mince de *Callista chione*. Pma : Profondeur du maximum d'abondance des filaments microperforants (colorés au bleu de Toluidine); Pmp : Profondeur maximale de pénétration des filaments microperforants. Barre d'échelle = 100µm. **B:** Schéma indiquant la méthode utilisée pour quantifier l'abondance des filaments microperforants sur des lames minces. Plusieurs transects de quadrats sont étudiés par lame. L'abondance est d'abord déterminée dans chaque unité de quadrat (en %), puis les quatre estimations sont ajoutées et ramenées à 100%.



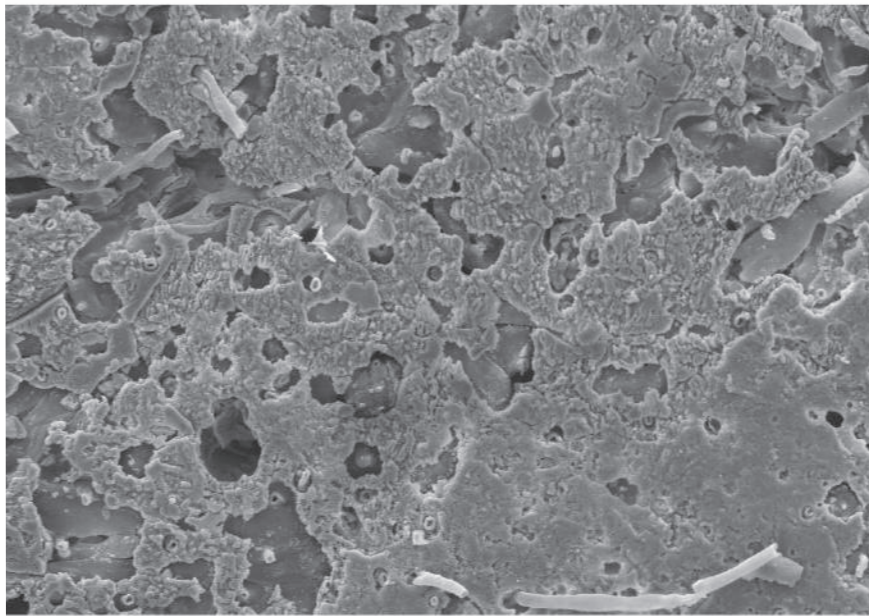
#### 2.4.1- Description des épilithes et des communautés microperforantes

Une description des épilithes présents à la surface des substrats ainsi que de l'état de leur surface seront présentés ultérieurement.

Des observations au microscope optique (Eclipse LV100, Nikon) des lames minces des deux substrats étudiés, mais également de morceaux de coquilles totalement décalcifiées, ont permis de déterminer la diversité spécifique des microperforants à chaque site d'étude. Ces observations ont été réalisées à l'objectif x20 et/ou x50. A cela s'ajoute quelques observations des galeries de perforation au microscope électronique à balayage à partir de lames minces de *Porites lobata*. L'identification a été effectuée avec l'aide d'Aline Tribollet et du Professeur Stjepko Golubic (Boston University, USA). Certains filaments ont également pu être comparés d'un point de vue morphologique à ceux présentés par [Wisshak et al. \(2011\)](#).

#### 2.4.2- Profondeurs de pénétration des filaments microperforants

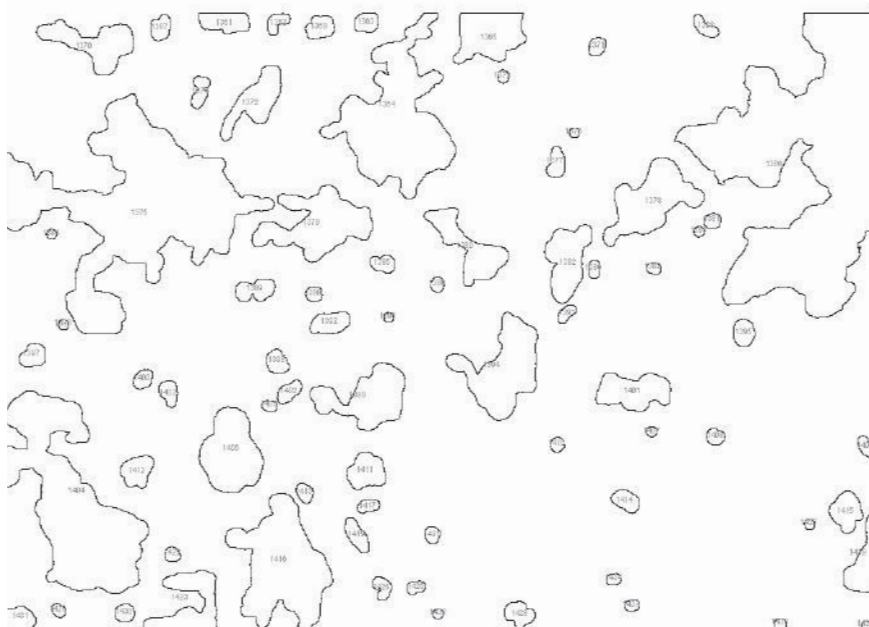
Deux types de profondeurs (en  $\mu\text{m}$ ) ont été mesurées à partir des lames minces de coquilles: (1) la profondeur du maximum d'abondance (Pma) correspondant à la profondeur pour laquelle l'abondance des filaments représente plus de 80% des filaments présents dans le substrat, et (2) la profondeur maximale de pénétration (Pmp) correspondant à la profondeur maximale de pénétration des filaments dans les coquilles (Fig. 8A). Ces profondeurs ont été mesurées au microscope optique (objectif x20) grâce à des transects de quadrats de dimensions connues (calibration à la lame micrométrique) (Fig. 8B). Les mesures ont été faites sur 12 lames minces par site (soit 36 lames minces) et 15 transects par lame choisis de manière aléatoire (soit  $n = 180$  mesures par site). La notion de hasard dans les mesures de profondeur de pénétration des filaments microperforants a ici toute son importance car la distribution des microperforants dans les substrats calcaires est connue pour être hétérogène, en patch (Annexe 3, photographie A) ([Santos and Mayoral 2008](#), [Tribollet 2008a](#)). Enfin toutes les mesures ont été effectuées par le même observateur avec une précision de  $1,5 \pm 0,6$  %. Cette précision a été déterminée en répétant trois fois les mesures pour trois mêmes lames à une semaine de décalage.



**Etape 1: Photographie MEB (x400)**



**Etape 2: Retouche sur Photoshop**



**Etape 3: Analyse d'image sur ImageJ**

**Figure 9.** Etapes du traitement d'image pour le calcul de la surface bioérodée à la surface des substrats étudiés (coquilles de *Callista chione*).

#### *2.4.3- Abondance des filaments microperforants*

D'autres observations microscopiques (objectif x20) des lames minces ont permis de déterminer semi-quantitativement l'abondance des filaments à l'intérieur des substrats étudiés (coquilles). Comme précédemment, cette mesure a été réalisée le long de transects de quadrats de taille connus (Fig. 8B). L'abondance des filaments des microperforants a été mesurée sur 12 lames minces par site (soit 36 lames minces) et 15 transects par lame, choisis de manière aléatoire (soit  $n = 180$  mesures par site). Elle a été estimée dans un premier temps dans chaque unité de quadrat, puis additionnée (4 unités de quadrats = 1 transect), et enfin ramenée à 100% (Fig. 8B). Cette mesure a été effectuée avec la même précision que les mesures de profondeurs de pénétration des filaments perforants ( $1,5 \pm 0,6 \%$ ).

#### *2.4.4- Surface bioérodée par les microperforants*

La surface de chaque échantillon a été exposée à la colonisation par la microflore perforante et a donc subi la microbioérosion. Il est possible à partir d'observations faites au microscope électronique à balayage (MEB) et d'une analyse d'images de quantifier la surface bioérodée par la microflore perforante à la surface des substrats (Tribollet et al. 2002). Dans le cadre de cette étude, 30 photographies de la surface de chaque échantillon (soit  $n = 90$  par site) ont été prises au MEB au grossissement x400, de manière aléatoire sur toute la surface de l'échantillon. A l'aide du logiciel Adobe Photoshop, les photographies ont d'abord été retouchées afin que les galeries apparaissent en noir et le substrat calcaire en blanc (Fig. 9). Enfin le logiciel ImageJ a permis de déterminer l'aire bioérodée par rapport à l'aire totale du substrat observé sur chaque photo (en %) (Fig. 9). La détermination du pourcentage de surface bioérodée était précise à  $1,2 \pm 0,1 \%$ . Cette précision a été déterminée en répétant trois fois les mesures, à partir de dix mêmes photos, à une semaine de décalage.

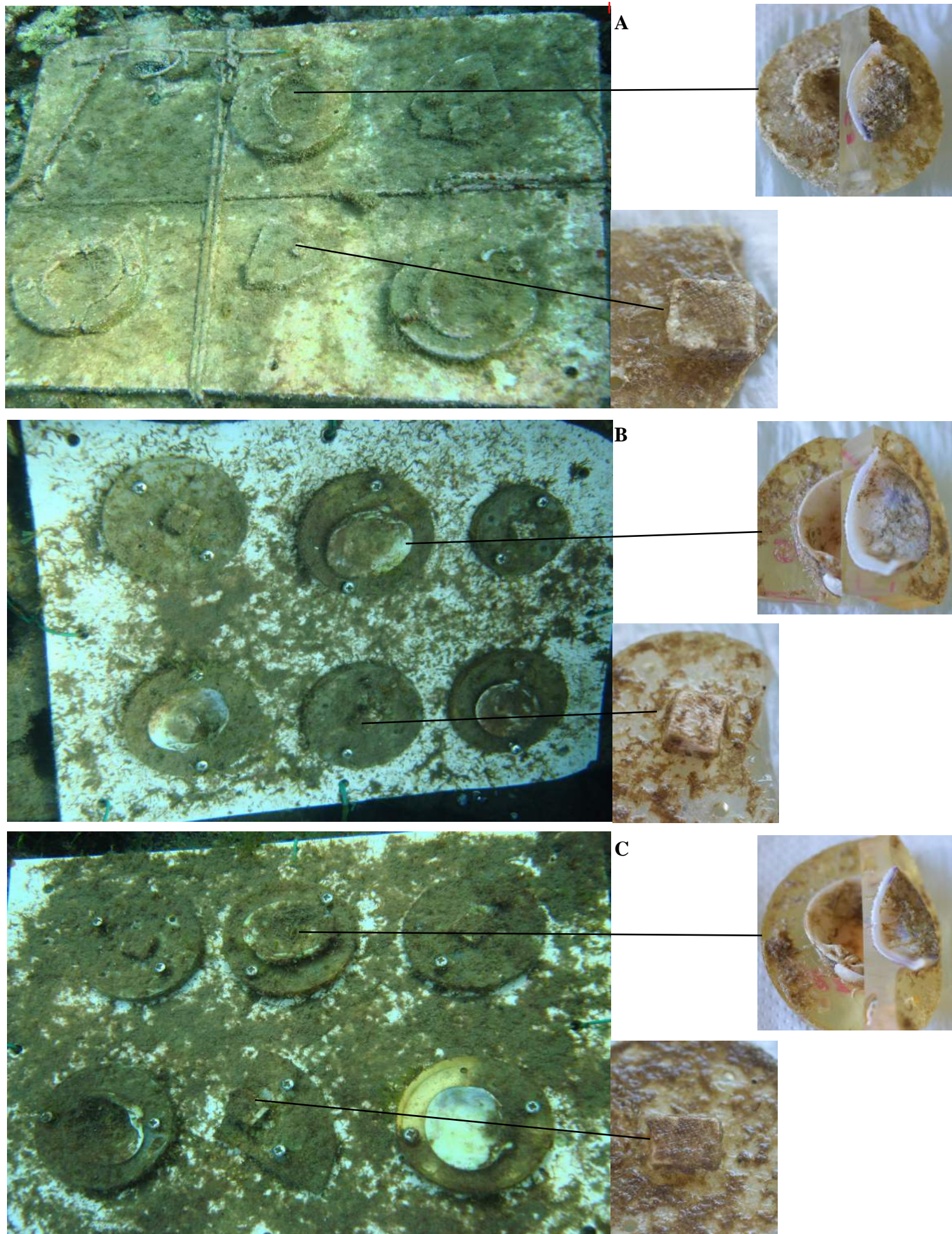
#### *2.4.5- Taux de microbioérosion ou dissolution biogénique*

Connaissant la surface bioérodée et la profondeur du maximum d'abondance des filaments microperforants, il a été possible de calculer le taux de bioérosion dû à la microflore perforante. Ce taux est exprimé en g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  d'après l'équation suivante (Tribollet 2008a) :



Echantillons *in situ*

Echantillons après rinçage à l'eau claire



**Figure 10.** Photographies des substrats coralliens (*Porites lobata*) et coquillés (*Callista chione*) après 6 mois d'exposition en milieu naturel. **A:** Site C (contrôle, pH = 8,02), **B:** Site S1 (pH = 7,24), **C:** Site S2 (pH = 7,44).

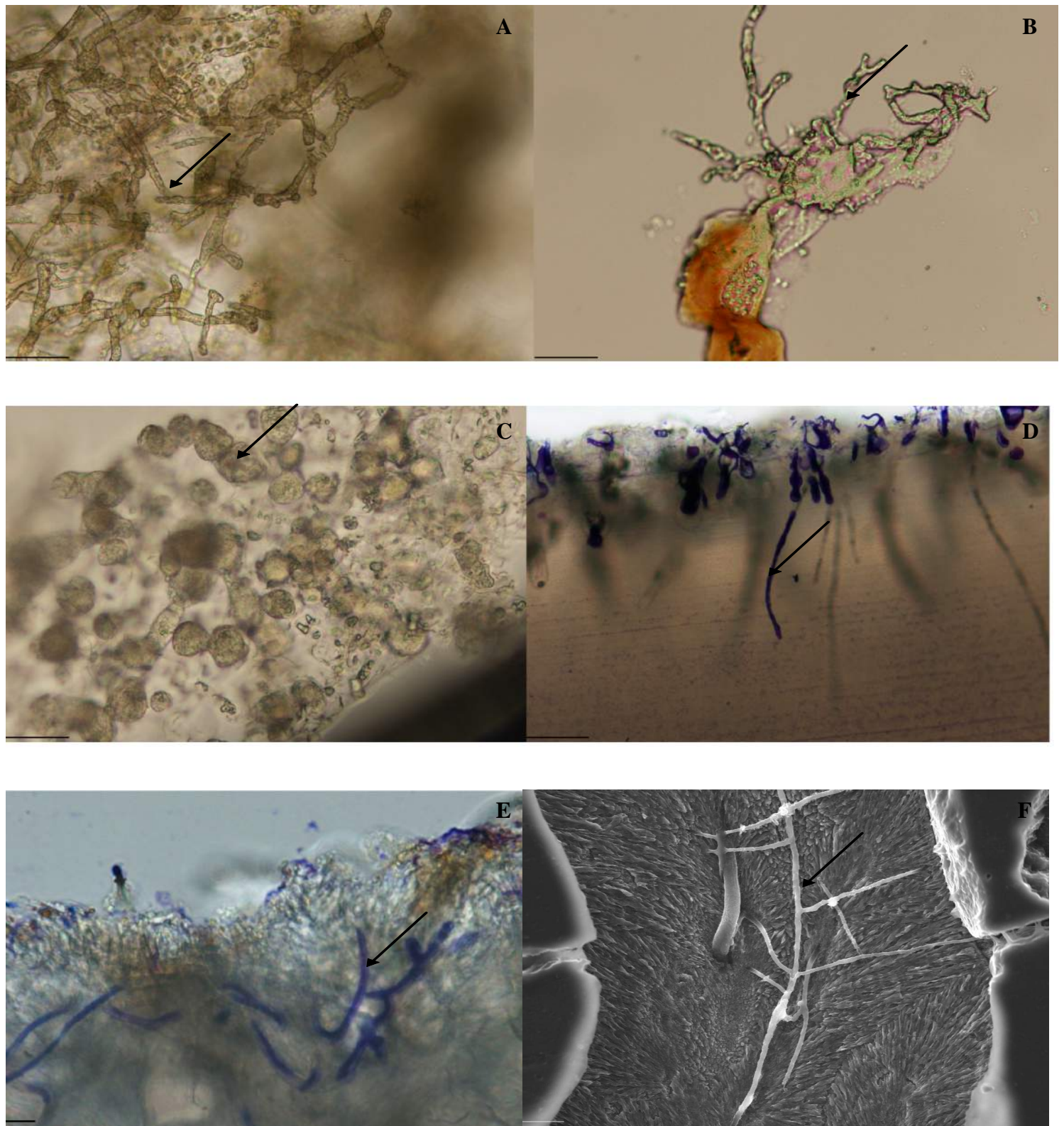
$$\frac{\% \text{ de Surface bioérodée} \times \text{Profondeur du maximum d'abondance} \times \text{Microdensité du substrat}}{\text{Temps d'exposition}}$$

- Où
- la profondeur du maximum d'abondance est exprimée en cm
  - la micro-densité du substrat est exprimée en  $\text{g.cm}^{-3}$
  - le temps d'exposition est exprimé en année

## 2.5- Analyses statistiques

Afin d'analyser les données mesurées (biologiques et environnementales) des tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel R. Des boîtes de Tuckey (ou boîtes à moustaches) ont permis de représenter graphiquement la variabilité inter-site des variables biologiques étudiées. Une analyse de la normalité (Test Shapiro) suivi d'un test de l'homoscedasticité des variances (Batlett) a montré que seuls certains facteurs environnementaux (température, alcalinité totale, concentration en ions carbonate, bicarbonate et état de saturation de l'eau de mer en calcite et en aragonite) pouvaient être analysés par une ANOVA à 1 facteur suivi d'un test de Student-Newman-Keuls (SNK). Les autres paramètres ne suivaient pas une loi normale ou l'homoscedasticité n'était pas respectée. Ils ont donc été analysés à l'aide de tests non paramétriques. Le test de comparaison de moyenne de Kruskal – Wallis était le plus approprié, suivi d'une comparaison multiple de Wilcoxon. Ces analyses ont été effectuées pour une erreur  $\alpha = 0,05$ .





**Figure 11.** Photographies de divers filaments et de galeries (F) de microperforants (indiqués par les flèches) présents dans les coquilles de *Callista chione* et dans le squelette corallien de *Porites lobata*. **A:** *Eugomontia* sp, **B:** *Phaeophila* sp, **C:** *Entocladia* sp, **D:** *Hyella* sp, **E:** *Mastigocoleus testarum*, **F:** galeries de champignons perforants. **A, B, C, D, E:** photographies prises au microscope optique. **A, B et C:** filaments observés après dissolution d'un éclat de coquille de *Callista chione*. **D et E:** filaments observés à partir de lames minces de *Callista chione*. **A, B, C, D:** barre d'échelle = 100µm. **E:** barre d'échelle = 10µm. **F:** photographie prise au microscope électronique à balayage d'une lame mince de *Porites lobata*, barre d'échelle = 10µm.

### III- Résultats

#### 3.1- Variabilité inter-site des paramètres environnementaux

Les paramètres « température » et « alcalinité totale » sont les seuls à ne pas varier significativement entre les trois sites pour la période étudiée (ANOVA à 1 facteur, température  $p = 0,91$  ; alcalinité totale  $p = 0,74$ ). La température moyenne pour les trois sites durant l'expérience était de  $20,8 \pm 3,6$  °C. L'alcalinité totale moyenne était quant à elle de  $2573 \pm 15$   $\mu\text{mol.kg}^{-1}$  pour les trois sites. Tous les autres paramètres environnementaux variaient, en revanche, de manière significative (SNK, Wilcoxon,  $p < 0,05$ ) entre le site C et les sites S1 et S2. Les sites S1 et S2 présentaient des pH et  $p\text{CO}_2$  non significativement différents (Wilcoxon, pH  $p = 0,2$  ;  $p\text{CO}_2$   $p = 0,08$ ). Il en était de même pour leur concentration en dioxyde de carbone, en carbone total (DIC ou Ct) ainsi que l'état de saturation de l'eau en aragonite (Wilcoxon,  $p > 0,05$ ). Pour les sites S1 et S2, le pH moyen était donc de  $7,34 \pm 0,57$ , la  $p\text{CO}_2$  de  $4596 \pm 3872$   $\mu\text{Atm}$  et l'état de saturation de l'eau de mer en aragonite de  $1,21 \pm 0,63$  alors qu'au niveau du site C le pH était de  $8,02 \pm 0,03$ , la  $p\text{CO}_2$  de  $477 \pm 43$   $\mu\text{Atm}$  et l'état de saturation de l'eau de mer en aragonite de  $3,57 \pm 0,43$ .

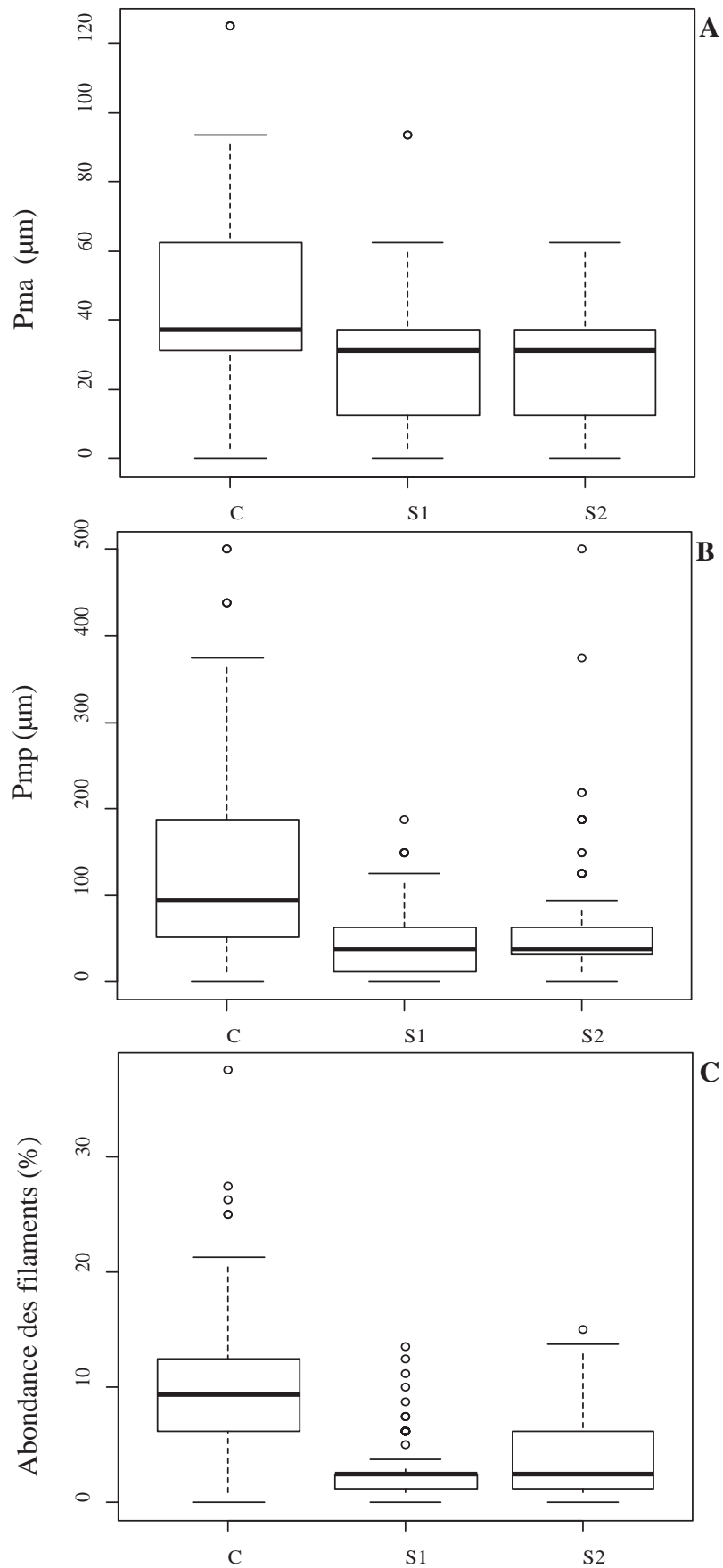
#### 3.2- Descriptions des épilithes et de la communauté microperforante observée

##### *3.2.1- Description des organismes épilithes couvrant la surface des substrats*

Les coquilles et les blocs de corail du site C étaient recouverts d'épilithes composés principalement de turfs algaux et de rares serpulidés (polychètes avec tube calcaire) (Fig. 10). En observant ces substrats au microscope électronique à balayage, la présence de quelques bryozoaires et algues encroûtantes a également pu être notée à la surface des substrats (voir Annexe 3, photographies C et D). Au niveau des sites S1 et S2, les serpulidés étaient absents de la surface des substrats. Seuls des turfs algaux ont été observés (Fig. 10).

##### *3.2.2- Dissolution chimique et broutage*

Des traces importantes de dissolution chimique ont été observées au microscope électronique à balayage à la surface des substrats des sites S1 et S2 (voir Annexe 3, photographie B). Ces traces sont très comparables à celles décrites par [Cutler \(1995\)](#) (voir



**Figure 12.** Boîtes de Tuckey indiquant la variabilité de paramètres biologiques entre les trois sites C (pH = 8,02), S1 (pH = 7,24), S2 (pH = 7,44) dans les coquilles de *Callista chione*. **A:** Profondeur du maximum d'abondance des filaments des microperforants (Pma) en μm, **B:** Profondeur maximale de pénétration des filaments des microperforants (Pmp) en μm, **C:** Abondance des filaments des microperforants en %. (n = 180).

Fig. 11 et 12 de [Cutler \(1995\)](#)). La surface des substrats du site C présentait quant à elle de nombreuses marques de broutage comme celles décrites par [Wisshak et al. \(2011\)](#) (voir Fig. 10 de [Wisshak et al. \(2011\)](#)) et correspondant à des traces de radula de gastéropodes ou de chitons ainsi que de lanterne d'Aristote d'oursins.

### 3.2.3- Diversité spécifique des microperforants

Tous les substrats, coquilles et coraux, présentaient plusieurs chlorophycées perforantes *Eugomontia* sp., *Entocladia* sp. et *Phaeophila* sp. (Fig. 11A à C). Quelques cyanobactéries perforantes ont pu également être observées : *Mastigocoleus testarum* (Fig. 11D) et *Hyella* sp. (Fig. 11E). Des observations réalisées au microscope électronique à balayage, à partir de lames minces de *Porites lobata*, ont mis en évidence la présence de galeries très fines (diamètre inférieur à 1-2  $\mu\text{m}$ ) avec parfois des ramifications à angle droit (Fig. 11F). Celles-ci sont assez caractéristiques des champignons perforants.

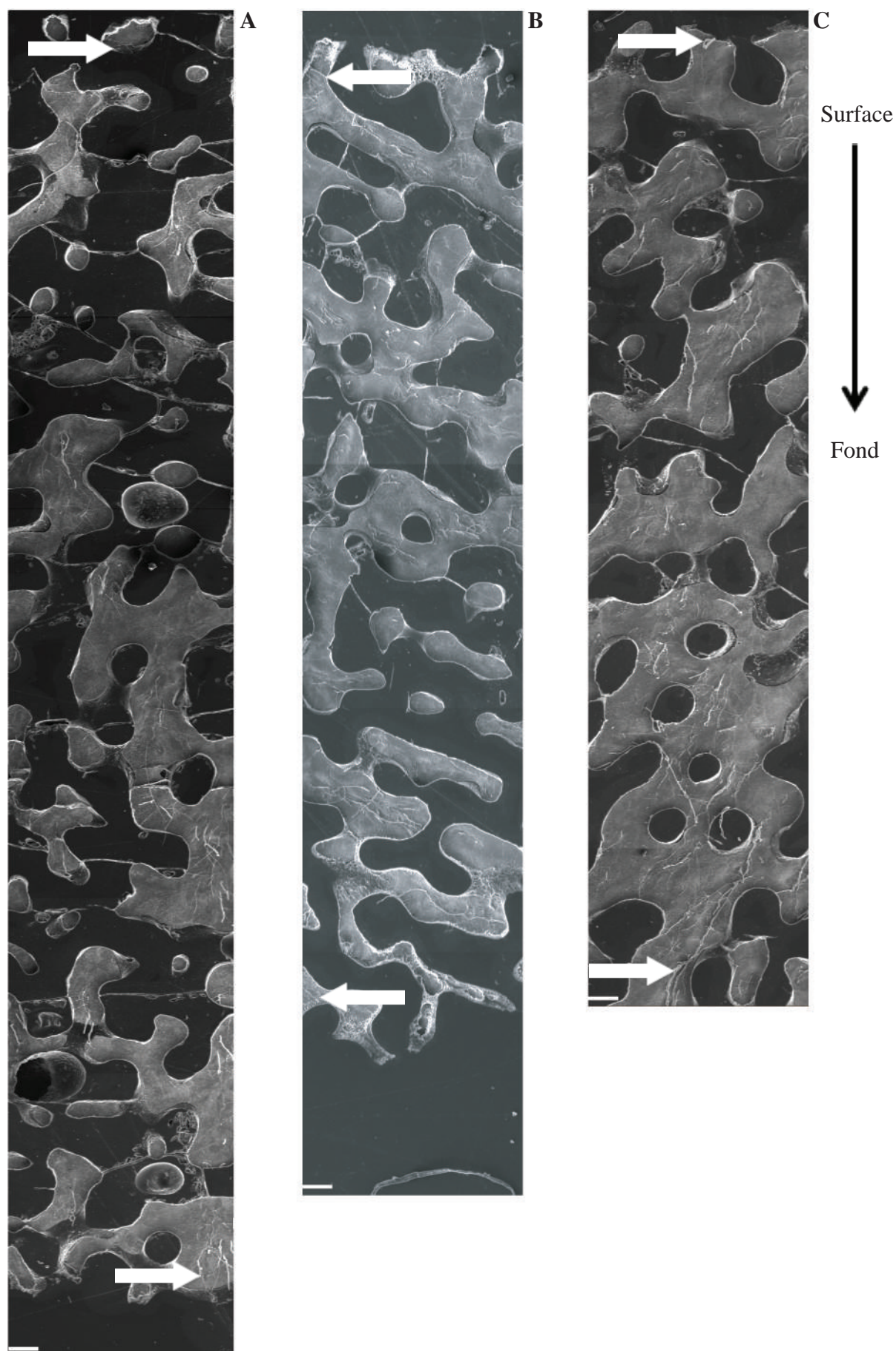
## 3.3- Distribution des filaments microperforants dans les substrats étudiés

### 3.3.1- Profondeurs de pénétration

La profondeur moyenne de pénétration du maximum d'abondance des filaments des microperforants (Pma) était de  $42 \pm 6 \mu\text{m}$  dans les coquilles du site C, alors qu'elle était de  $28 \pm 4 \mu\text{m}$  pour celles de S1 et de  $29 \pm 7 \mu\text{m}$  pour celles de S2 (Fig. 12A). Pour ce qui est de la profondeur maximale de pénétration des filaments perforants (Pmp) celle-ci était de  $127 \pm 7 \mu\text{m}$  pour les coquilles du site C et de  $46 \pm 12 \mu\text{m}$  pour celles du site S1 et de  $55 \pm 21 \mu\text{m}$  pour celles du site S2 (Fig. 12B). Les deux types de profondeurs de pénétration des filaments perforants mesurées (Pma et Pmp) étaient significativement plus importantes dans les coquilles collectées sur le site C qu'au niveau des sites S1 et S2 (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). Il n'y avait pas de différence significative de profondeurs de pénétration des filaments entre les coquilles des S1 et S2 (Wilcoxon, Pma  $p = 0,94$ , Pmp  $p = 0,61$ ). Pour ces dernières, Pma était donc égale à  $28,5 \pm 6,5 \mu\text{m}$  et Pmp à  $50,5 \pm 16,5 \mu\text{m}$ .

Les observations réalisées au microscope électronique à balayage des lames minces du corail *Porites lobata* ont montré que les filaments microperforants traversaient sur toute la





**Figure 13.** Profils reconstitués à partir de photographies prises au microscope électronique à balayage de lames minces de *Porites lobata* pour chaque site d'étude. Les filaments microperforants (galeries indiqués aux deux extrémités par les flèches) traversent de part en part les substrats. **A:** site C (pH = 8,02), **B:** site S1 (pH = 7,24), **C:** site S2 (pH = 7,44). Barre d'échelle = 10 $\mu$ m.

hauteur étudiée du substrat et ce quel que soit le site d'étude (soit une profondeur maximale de pénétration des filaments de l'ordre de 4 mm, Fig. 13).

### 3.3.2- Abondance des filaments microperforants

L'abondance des filaments était de  $9,7 \pm 1,2\%$  pour les coquilles du site C alors qu'elle était de  $2,6 \pm 0,8\%$  pour celles du S1 et de  $3 \pm 1\%$  pour celles du site S2 (Fig. 12C). L'abondance des filaments perforants était significativement plus importante dans les substrats exposés au niveau du site C que ceux des deux autres sites (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). Il n'y avait, cependant, pas de différence significative entre les sites S1 et S2 (Wilcoxon,  $p = 0,31$ ). L'abondance des filaments perforants était donc en moyenne de  $2,8 \pm 0,9\%$  pour les coquilles des sites S1 et S2.

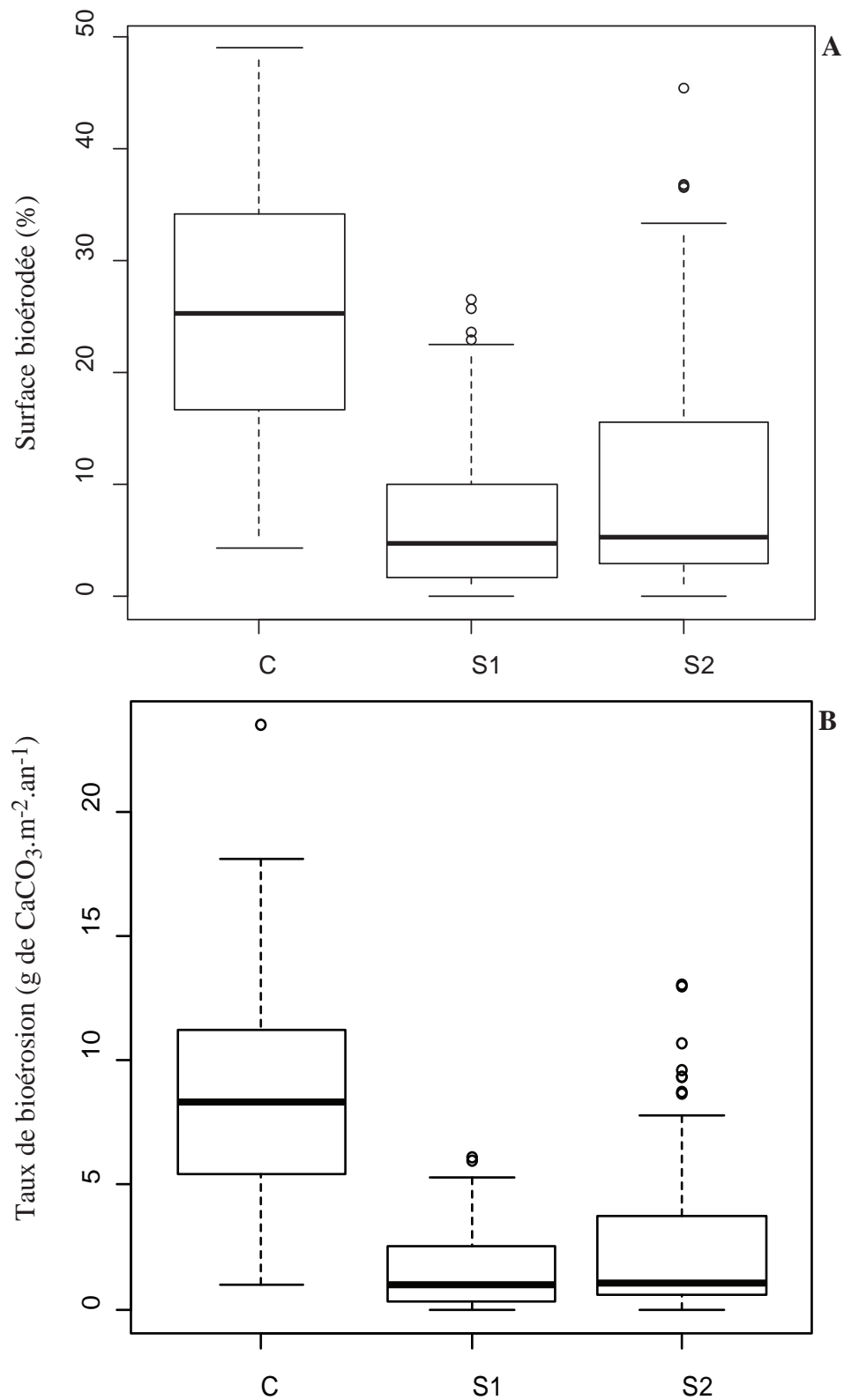
### 3.4- Surface bioérodée par la microflore perforante

Le pourcentage de surface bioérodée des coquilles du site C était de  $26,9 \pm 10,4\%$  alors que celui des substrats des sites S1 et S2 était respectivement de  $7,1 \pm 5,5\%$  et  $10,4 \pm 8,5\%$  (Fig. 14A). La surface des coquilles du site C présentait un pourcentage de surface bioérodée par les microperforants significativement plus élevé que celle des coquilles des deux autres sites (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). Le pourcentage de surface bioérodée des coquilles des sites S1 et S2 n'était pas significativement différent (Wilcoxon,  $p = 0,056$ ). La surface bioérodée des coquilles des sites S1 et S2 était donc en moyenne de  $7,8 \pm 7\%$ .

### 3.5- Taux de bioérosion ou de dissolution biogénique

Les coquilles du site C présentaient un taux de bioérosion de  $8,5 \pm 3,3 \text{ g de CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  alors qu'il était respectivement de  $1,5 \pm 1,2 \text{ g de CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  et de  $2,5 \pm 2,3 \text{ g de CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  pour les coquilles des sites S1 et S2 (Fig. 14B). Aussi, comme pour les variables biologiques présentées précédemment, les taux de bioérosion étaient significativement plus importants dans les coquilles du site C que celles des deux autres sites (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ). Il n'y avait pas de différence significative entre les sites S1 et S2 (Wilcoxon,  $p = 0,08$ ). Pour les coquilles des sites S1 et S2 le taux de bioérosion était donc en moyenne de  $2 \pm 1,7 \text{ g de CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ .





**Figure 14.** Boîtes de Tuckey indiquant la variabilité entre les sites (C (pH = 8,02), S1 (pH = 7,24), S2 (pH = 7,44)) de la surface bioérodée en % par les microperforants (**A**) et de leurs taux de bioérosion en g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  (**B**) des coquilles de *Callista chione*. (n = 90).

## IV- Discussion

Afin d'étudier l'impact de l'acidification de l'eau de mer sur la microflore perforante de substrats calcaires, des blocs coralliens (*Porites lobata*) et des coquilles (*Callista chione*), ont été exposés à trois pH différents en Méditerranée et ce durant six mois. Plusieurs paramètres biologiques ont alors été mesurés sur les substrats des différents sites d'étude dans le but de mettre en évidence cet impact : diversité des microperforants, profondeurs de pénétration de leurs filaments, abondance des filaments dans le substrat, surface bioérodee et taux de dissolution biogénique induit par ces microbioérodteurs.

### 4.1- Epilithes et communautés microperforantes

Les communautés épilithes observées sur les substrats étudiés ici sont comparables à celles décrites sur des algues calcifiantes et des macroalgues à Ischia (Hall-Spencer et al. 2008, Martin et al. 2008, Hall-Spencer and Rodolpho-Metalpa 2009). Les substrats calcaires de cette étude provenant de Nouvelle – Calédonie (*Porites lobata*) et de Mer du Nord (*Callista chione*) ont donc été colonisés de la même manière que les organismes et les substrats présents naturellement à Ischia.

Les communautés microperforantes présentes dans les substrats étudiés étaient caractéristiques d'assemblages « immatures », et ce malgré les six mois d'exposition. En effet, il est normalement possible d'observer des espèces de communautés dites « matures » (telle qu'*Ostreobium quekettii*, *Plectonema terebrans* (Gektidis 1999)) au bout de six mois d'exposition à la colonisation. Les espèces décrites dans cette étude (*Eugomontia* sp., *Entocladia* sp., *Phaeophila* sp., *Mastigocoleus testarum*, *Hyella* sp.) sont des espèces dites pionnières dans la colonisation de nouveaux substrats (Chazottes et al. 1995, Gektidis 1999, Tribollet 2008b). Aux Açores (Atlantique), Wisshak et al. (2011) ont observé des espèces similaires à celles décrites dans la présente étude et sur le même type de substrat, à savoir des coquilles de *Callista chione*. Cependant la communauté de microperforants décrite au bout de trois mois par ces auteurs était bien plus diversifiée que celle de la présente étude au bout de six mois d'exposition à la colonisation par les microperforants. Wisshak et al. (2011) ont, en effet, décrit cinq espèces de cyanobactéries et quatre espèces de chlorophycées contre deux et trois respectivement pour cette étude. De plus, Wisshak et al. (2011) ont montré la présence d'espèces appartenant aux communautés dites « matures » telle que *O. quekettii*. Sous les

tropiques, [Mao Che et al. \(1996\)](#) ont trouvé dans des coquilles d'huîtres perlières (*Pinctada margaritifera* var. *cumingii* Linné 1758) les mêmes espèces pionnières que celles décrites ici mais, comme pour [Wisshak et al. \(2011\)](#), la diversité spécifique des communautés était bien plus importante que dans les substrats étudiés à Ischia. Dans divers substrats récifaux (coraux, coquilles, etc), [Gektidis \(1999\)](#) avaient également décrit une communauté plus diversifiée après six mois d'exposition que celle décrite dans cette étude mais également des filaments de communautés dites « mature » .

Plusieurs raisons peuvent être avancées pour expliquer les différences de communauté de microperforants observées au cours de cette étude et dans la littérature. Tout d'abord, les traces de broutage (qui traduisent une pression de broutage) constatées à la surface des substrats du site C ont pu influencer les microperforants. En effet, [Chazottes et al. \(1995\)](#) et [Tribollet and Golubic \(2005\)](#) ont montré, lors d'expériences réalisées respectivement sur les récifs coralliens de Polynésie française et au niveau de la Grande Barrière de corail, qu'il existait une corrélation entre broutage et microbioérodeurs. Ces deux études ont démontré que lorsque la pression de broutage augmente, la bioérosion des microperforants diminue. En se nourrissant du tapis de turfs algaux à la surface des substrats et des endolithes, les brouteurs retirent alors une partie de leur surface. La surface du substrat a donc continuellement été remaniée par les brouteurs et celle-ci s'est comportée alors comme une surface vierge à coloniser ([Tribollet 2008a](#)). Comme il a été expliqué plus haut la dynamique d'infestation des substrats par les microbioérodeurs démarre par l'installation d'une communauté « immature » qui sera normalement suivie après quelques mois par l'installation des espèces des communautés « matures » ([Chazottes et al. 1995](#), [Le Campion-Alsumard et al. 1995](#), [Gektidis 1999](#), [Tribollet and Golubic 2005](#), [Tribollet 2008b](#)). La pression de broutage alors exercée au niveau du site C a remanié la surface des substrats et a permis aux espèces pionnières seulement (qui appartiennent à une communauté « immature ») de s'installer tout en ralentissant l'installation des espèces des communautés « matures ». [Wisshak et al. \(2011\)](#) ont également constaté des traces de broutage à la surface de leurs substrats. Cependant les substrats de l'étude de [Wisshak et al. \(2011\)](#) étaient recouverts d'épilithes calcifiants tel que des bryozoaires, des foraminifères et des bivalves qui ont fortement limité la pression de broutage et donc le remaniement de la surface des substrats.

Enfin les substrats de cette étude et ceux de la littérature n'étaient pas les mêmes (coquilles de *Callista chione* et coraux pour cette étude, coquilles d'huîtres pour celle de [Mao](#)

Che et al. (1996)) et n'avaient pas subi les mêmes conditions d'exposition (Ischia pour cette étude, Açores pour celle de Wisshak et al. (2011) et Polynésie pour celle de Mao Che et al. (1996)). Les différences de structure entre les substrats comparés ainsi que les différences de conditions d'exposition peuvent expliquer les différences d'infestation des substrats par les microperforants (Vogel et al. 2000) et donc les différences de diversité spécifique observées.

#### 4.2- Distribution des filaments microperforants

Les filaments microperforants ont peu pénétré les substrats coquillés du site C. En effet, les profondeurs du maximum d'abondance (Pma) des filaments perforants étaient de  $42 \pm 6 \mu\text{m}$  et les profondeurs maximales de pénétration (Pmp) étaient de  $127 \pm 7 \mu\text{m}$  pour les coquilles du site C. Mao Che et al. (1996) ont montré pour des huîtres perlières (en Polynésie) que les filaments de microperforants pénétraient juste sous la surface (entre 25 et 70  $\mu\text{m}$  de profondeur de pénétration selon l'espèce microperforante considérée) et que seules les espèces appartenant aux communautés dites « matures », telles qu'*Ostreobium quekettii*, pouvaient pénétrer à plus d'un millimètre de profondeur dans ces substrats coquillés. Les valeurs de profondeurs de pénétration (Pma et Pmp) des microperforants obtenues dans les substrats coquillés durant cette étude étaient largement inférieures à celles observées dans des substrats coralliens. Tribollet et al. (2009) ont mesuré (à Hawaï) des profondeurs de maximum d'abondance (Pma) des filaments perforants de 490  $\mu\text{m}$  et des profondeurs maximales de pénétration (Pmp) des filaments de 1,92 mm dans des blocs coralliens après 6 mois d'exposition à la colonisation par les microperforants. En revanche, les valeurs minimales de profondeur maximale de pénétration des filaments des perforants obtenues dans *Porites lobata* sont plus élevées comparées aux données de la littérature citées précédemment (environ 4 mm dans la présente étude).

Les différences de profondeur de pénétration (Pma et Pmp) des filaments microperforants entre les substrats coralliens et coquillés peuvent s'expliquer d'abord par les différences de structure (Vogel et al. 2000) existant entre ces deux substrats aragonitiques. Les microperforants utilisent la porosité importante des coraux (de l'ordre de 53% pour *Porites lobata*) pour se développer dans le substrat. Cette porosité permet à la lumière de pénétrer plus profondément dans le substrat et donc permet aux microbioérodeurs phototrophes d'atteindre une profondeur de compensation (photosynthèse = respiration) plus importante dans les coraux que dans les coquilles qui, elles, ne sont pas poreuses. Ces

différences peuvent s'expliquer également par les différences de conditions d'exposition (par exemple, l'irradiance est plus élevée sous les tropiques (étude de [Mao Che et al. \(1996\)](#)) que qu'en Méditerranée (présente étude).

#### 4.3- Activité bioérosive des microperforants

Le pourcentage de surface bioérodée des substrats coquillés du site C après six mois d'exposition ( $26,9 \pm 10,4\%$ ) était proche de ceux observés par [Mao Che et al. \(1996\)](#) sur des huîtres perlières et par [Tribollet et al. \(2009\)](#) sur des blocs coralliens après six mois d'exposition à la colonisation par les microperforants. En revanche, le taux de bioérosion mesuré pour les coquilles du site C ( $8,5 \pm 3,3$  g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ ) est faible comparé à ceux estimés dans d'autres coquilles de mollusque étudiées en milieu tropical ([Vogel et al. 2000](#), [Carreiro-Silva et al. 2005](#)). [Carreiro-Silva et al. \(2005\)](#) ont, par exemple, déterminé pour la coquille du gastéropode *Strombus* sp., un taux de bioérosion de 46 g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  après 49 jours seulement d'exposition à la colonisation par les microperforants. [Vogel et al. \(2000\)](#) ont trouvé des valeurs de taux de bioérosion de l'ordre de 30 g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  pour des coquilles de bénitier du genre *Tridacna* après cinq mois d'exposition à la microflore perforante. De même, le taux de microbioérosion des coquilles du site « contrôle » était très inférieur à ceux qui ont pu être mesuré dans des coraux morts ([Chazottes et al. 1995](#), [Tribollet 2008b](#)). [Tribollet \(2008b\)](#) a obtenu des taux de microbioérosion de plus de 130 g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  dans des blocs de *Porites lobata* exposés durant un an à la colonisation en milieu côtier. Dans le même substrat, [Chazottes et al. \(1995\)](#) ont mesuré un taux de microbioérosion de 200 g de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$  après six mois d'exposition aux microperforants.

De même que pour les profondeurs de pénétration des filaments perforants (Pma et Pmp) la différence des taux de bioérosion existant avec les données rapportées dans la littérature pourraient d'abord s'expliquer par des différences existant entre les substrats utilisées (en terme de structure, de porosité et de densité) ([Vogel et al. 2000](#)). Les taux importants de bioérosion obtenus par [Tribollet \(2008b\)](#) et par [Chazottes et al. \(1995\)](#) dans des coraux sont le fait de la forte porosité de ces derniers (comme détaillé plus haut) qui permet aux filaments des microperforants de descendre à une profondeur de compensation plus importante que dans des substrats non poreux (coquilles). Les différences de taux de bioérosion notées entre les trois types de substrats coquilliers cités plus haut proviendraient des différences existants entre les densités de ces coquilles ([Perry 1998](#)). Alors que la densité

de la coquille de *Strombus* sp. est de  $1 \text{ g.cm}^{-3}$  (Lescinsky and Hoedt 2008) et celle des coquilles de *Tridacna* sp. est de  $2,75 \text{ g.cm}^{-3}$  (Bonham 1965) la plus forte densité des coquilles de *Callista chione* qui est de  $3,75 \text{ g.cm}^{-3}$  (Wisshak et al. 2011) pourrait limiter sa dissolution biogénique par les microperforants. Comme pour la distribution des microperforants, les conditions d'exposition des substrats à la colonisation par la microflore perforante (durée d'exposition, site géographique) peuvent également influencer le taux de microbioérosion. Enfin, la technique d'estimation du taux de bioérosion et plus précisément de la surface bioérodée par la microflore perforante n'est pas la même d'une équipe de recherche à une autre. Par exemple, Carreiro-Silva et al. (2005) et Vogel et al. (2000) ont estimé la surface bioérodée de leur substrat à partir d'une « clé » préétablie de pourcentage de surface bioérodée connus. Des photographies de la surface d'un échantillon sont prises, au hasard, au microscope électronique à balayage. Le pourcentage de surface bioérodée par les microperforants est mesuré précisément grâce au traitement d'image. Pour une photographie est alors établi un pourcentage de surface bioérodée précis. Afin d'obtenir le pourcentage de surface bioérodée pour les autres échantillons seules des photographies de la surface des échantillons sont prises au MEB et directement comparées à cette « clé ».

#### 4.4- Effet de l'acidification sur la microflore perforante de substrats aragonitiques

Pour *Porites lobata* l'absence de différence de profondeur de pénétration des filaments de microperforants entre les sites S1, S2 et le site C (observation au microscope électronique à balayage (MEB)) ne permet pas de conclure à une tendance quelconque. L'inclusion des blocs dans une résine de fixation a généré la préparation des échantillons, la partie inférieure des blocs a donc été retirée avant la réalisation de lames minces pour le MEB. La hauteur du substrat utilisée pour les mesures de profondeur de pénétration des filaments perforants était en effet de seulement 4 mm. Dans des études précédentes il a été rapporté dans des coraux (expérience en aquarium) des valeurs de profondeur maximale de pénétration des filaments de microperforant de plus de 4 mm après neuf mois d'exposition à la colonisation par les microperforants (et pour un pH de 8,2) (Tribollet et al. 2009). La hauteur des blocs coralliens utilisées pour la réalisation des lames minces (pour les observations au MEB) n'était donc pas suffisante pour permettre de distinguer une éventuelle différence de profondeur de pénétration des filaments perforants entre les sites.

L'absence de communautés de microperforants dites « matures » au niveau des sites S1 et S2 peut s'expliquer par un phénomène de dissolution chimique. L'état de saturation de l'eau de mer en aragonite ( $\Omega_{\text{arag}}$ ) était en moyenne de  $1,21 \pm 0,63$  pour les sites S1 et S2. Cependant, plusieurs fois durant l'expérience cet état de saturation était inférieur à 1 voire proche de 0 (Annexe 2). Des valeurs inférieures à 1 pour  $\Omega_{\text{arag}}$  (traduisant une sous-saturation de l'eau de mer en aragonite) provoquent une dissolution chimique des substrats aragonitiques qui y sont exposés (Doney et al. 2009). Tout comme la pression de broutage qui a été exercée au niveau du site C, la dissolution chimique provoquée par la sous-saturation de l'eau mer en aragonite au niveau des sites S1 et S2 a continuellement remanié la surface des substrats de cette étude. Ce phénomène a permis aux espèces pionnières de continuer à coloniser le substrat mais a empêché l'installation d'une communauté de microperforants dite « mature ». De même, la sous-saturation de l'eau de mer en aragonite au niveau des sites S1 et S2 a empêché l'installation d'espèces épilithes calcifiantes sur les substrats de cette étude. A Ischia, Martin et al. (2008) ont montré que le pourcentage de recouvrement des macroalgues par des épilithes corallines passait de  $18 \pm 22$  % pour des  $\Omega_{\text{arag}}$  de  $3,74 \pm 0,17$  à 0% pour des  $\Omega_{\text{arag}}$  de  $1,89 \pm 1,22$ .

Il est possible de penser que l'acidification, en fragilisant le substrat, aurait stimulait le développement en profondeur des microperforants. La fragilisation aurait pu faciliter la croissance en profondeur des microperforants, ce qui n'a pas été le cas ici. L'acidification au niveau des sites S1 et S2 était telle que l'état de saturation en aragonite de l'eau de mer était inférieur à 1 plusieurs fois durant l'expérience (Annexe 2) et a surtout permis la dissolution de la surface des substrats. Cette dissolution a empêché l'installation des microperforants « matures » et a donc réduit la microbioérosion (comme détaillé plus haut).

D'après les résultats de cette expérience avec les coquilles de *Callista chione*, l'acidification conduit à une diminution significative des paramètres biologiques qui ont été mesurés (profondeur de pénétration des filaments de microperforants (Pma, Pmp), abondance des filaments perforants, surface bioérodée par ceux-ci et taux de bioérosion). Ces résultats sont en contradiction avec ceux obtenus par Tribollet et al. (2009) en conditions contrôlées avec des blocs coralliens de *Porites lobata* (voir tableau comparatif Annexe 4). Ces auteurs ont montré une augmentation de l'activité bioérosive des microperforants et plus exactement d'*Ostreobium quekettii* pour une forte  $p\text{CO}_2$  (750 ppm prédits pour la fin du siècle, (IPCC 2007)). Plusieurs raisons peuvent expliquer en partie la divergence des deux études. Tout

d'abord, comme nous l'avons dit plus haut, la microbioérosion dépend du substrat et du milieu d'exposition (Vogel et al. 2000). L'absence de porosité dans les coquilles a limité en sub-surface le développement des microperforants (moins de 150  $\mu\text{m}$  de profondeur de pénétration des filaments perforants dans *Callista chione*). La présente expérience a été réalisée en milieu naturel sans qu'aucune condition environnementale ne puisse être contrôlée. Des épisodes de dissolution chimique au niveau de sites S1 et S2 ont perturbé l'installation de la communauté des microperforants comme nous l'avons détaillé plus haut. Ensuite, les pH d'exposition des substrats des sites S1 et S2 étaient plus faibles que ceux utilisés par Tribollet et al. (2009) (en moyenne 7,34 pour S1 et S2 contre 7,9 pour l'aquarium « acide » de Tribollet et al. (2009)). Les microperforants n'ont donc pas subi le même stress environnemental au cours des deux études. De plus, la durée d'exposition à l'acidification des substrats de cette étude était de six mois, contre trois mois pour l'étude de Tribollet et al. (2009). Enfin la colonisation par la microflore perforante des blocs de l'expérience de Tribollet et al. (2009) a été réalisée à pH normal ( $8,2 \pm 0,007$ ) et  $p\text{CO}_2$  ambiante dans la baie de Kaneohe à Hawaii durant six mois alors que la colonisation des substrats étudiés ici s'est produite *in situ* sur des sites présentant un pH très faible ( $7,34 \pm 0,57$ ) et un état de saturation de l'eau de mer en aragonite de  $1,21 \pm 0,63$ .



## V- Conclusion et perspectives

Cette étude est la première réalisée en milieu naturel, sur une période de six mois et dans le but de mettre en évidence l'impact de l'acidification sur la microflore perforante des substrats aragonitiques. Celle-ci a montré, tout d'abord, que la communauté de microperforants présente dans les substrats (quel que soit le site) n'en était qu'au stade « immature ». Cette expérience a réaffirmé, d'une part que la bioérosion dépendait des substrats et de leur structure propre et d'autre part que les microperforants pénétraient moins facilement dans des substrats coquillés que dans des coraux. Cette étude a également permis d'acquérir de toutes premières données d'activité bioérosive au niveau d'un site Méditerranéen et sur des coquilles de *Callista chione*. En effet, aucune donnée n'existe sur les taux de bioérosion en Méditerranée ou sur des coquilles de *C. chione*.

Cette expérience tend à montrer que l'activité bioérosive de la microflore perforante des substrats de *Callista chione* était ralentie lors d'une exposition à des pH faibles (sites S1 et S2,  $\text{pH} = 7,34 \pm 0,57$ ). A l'inverse, l'étude de [Tribollet et al. \(2009\)](#) a démontré pour des substrats coralliens qu'une exposition pH de  $7,9 \pm 0,03$  stimulait la croissance de chlorophycées perforantes et donc du taux de microbioérosion. Cette opposition entre les deux études (celle-ci et celle de [Tribollet et al. \(2009\)](#)) pourrait amener à l'hypothèse qu'il existerait un pH seuil à partir duquel la microbioérosion des substrats aragonitiques serait réduite. L'acidification aurait donc un impact négatif sur la microflore perforante à partir d'un certain pH seuil. L'impact négatif de l'acidification serait alors indirect. En effet, le remaniement de la surface des substrats dû à leur dissolution chimique empêcherait d'abord l'installation d'une communauté de microperforants dite « mature » et réduirait l'activité bioérosive des microperforants.

Afin de mieux appréhender cet éventuel seuil il serait intéressant de reproduire cette expérience en utilisant un gradient de pH plus large allant de 8,1 à 7 en passant par des paliers de 0,1 à 0,2 unité pH. Par ailleurs, L'instabilité des résurgences de  $\text{CO}_2$  a provoqué plusieurs épisodes de dissolution chimique au niveau des sites S1 et S2 qui ont sans doute perturbé les microperforants. Il serait donc intéressant, pour des études futures, de suivre la dynamique temporelle d'installation des microperforants dans les substrats au cours d'une expérience plus longue (au moins 1 an). Il serait également intéressant de mettre en œuvre une expérience où la colonisation des substrats par les microperforants se ferait à  $\text{pH} = 8,1$

pendant au moins six mois. Ces mêmes substrats seraient ensuite exposés à des pH plus faibles. Ce mode d'exposition des substrats à la colonisation par les microperforants permettrait le développement de communautés matures avant une exposition à des pH faibles. Ceci permettrait de mettre en évidence leur réponse à l'acidification en milieu naturel et leur contribution à la microbioérosion dans ce nouveau contexte. Enfin, une étude réalisée avec des blocs coralliens de plus grande dimension et fixés à l'aide de vis au substrat benthique permettrait d'éliminer les problèmes méthodologiques qui ont été rencontrés dans la présente étude et principalement liés à l'utilisation de résine de fixation.

## VI- Références

- Andersson, A. J., N. R. Bates, and F. T. Mackenzie. 2007. Dissolution of carbonate sediments under rising  $p\text{CO}_2$  and ocean acidification: Observations from Devil's Hole, Bermuda. *Aquatic Geochemistry* **13**:237-264.
- Andersson, A. J. and F. T. Mackenzie. 2012. Revisiting four scientific debates in ocean acidification research. *Biogeosciences* **9**:893-905.
- Andersson, A. J., F. T. Mackenzie, and A. Lerman. 2005. Coastal ocean and carbonate systems in the high  $\text{CO}_2$  world of the Anthropocene. *American Journal of Science* **305**:875-918.
- Anthony, K. R. N., D. I. Kline, G. Diaz-Pulido, S. Dove, and O. Hoegh-Guldberg. 2008. Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**:17442-17446.
- Berge, J. A., B. Bjerkeng, O. Pettersen, M. T. Schaanning, and S. Oxnevad. 2006. Effects of increased sea water concentrations of  $\text{CO}_2$  on growth of the bivalve *Mytilus edulis*. *Chemosphere* **62**:681-687.
- Bonham, K. 1965. Growth rate of giant clam *Tridacna gigas* at Bikini Atoll as revealed by radioautography. *Science* **149**:300-302.
- Caldeira, K. and M. E. Wickett. 2005. Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean. *Journal of Geophysical Research-Oceans* **110**:1-12.
- Carreiro-Silva, M., T. R. McClanahan, and W. E. Kiene. 2005. The role of inorganic nutrients and herbivory in controlling microbioerosion of carbonate substratum. *Coral Reefs* **24**:214-221.
- Chazottes, V., T. Le Campion-Alsumard, and M. Peyrot-Clausade. 1995. Bioerosion rates on coral reefs: interactions between macroborers, microborers and grazers (Moorea, French Polynesia). *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* **113**:189-198.
- Chazottes, V., T. Le Campion-Alsumard, M. Peyrot-Clausade, and P. Cuet. 2002. The effects of eutrophication-related alterations to coral reef communities on agents and rates of bioerosion (Reunion Island, Indian Ocean). *Coral Reefs* **21**:375-390.
- Cigliano, M., M. C. Gambi, R. Rodolfo-Metalpa, F. P. Patti, and J. M. Hall-Spencer. 2010. Effects of ocean acidification on invertebrate settlement at volcanic  $\text{CO}_2$  vents. *Marine Biology* **157**:2489-2502.

- Cooper, T. F., G. De 'Ath, K. E. Fabricius, and J. M. Lough. 2008. Declining coral calcification in massive Porites in two nearshore regions of the northern Great Barrier Reef. *Global Change Biology* **14**:529–538.
- Crook, E. D., D. Potts, M. Rebolledo-Vieyra, L. Hernandez, and A. Paytan. 2011. Calcifying coral abundance near low-pH springs: implications for future ocean acidification. *Coral Reefs* **31**:239-245.
- Cutler, A. H. 1995. Taphonomic implications of shell surface textures in Bahia-La-Choya, Northern Gulf of California. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* **114**:219-240.
- Dando, P. R., D. Stüben, and S. P. Varnavas. 1999. Hydrothermalism in the Mediterranean sea. *Progress in Oceanography* **44**:333-367.
- Doney, S. C., V. J. Fabry, R. A. Feely, and J. A. Kleypas. 2009. Ocean acidification: the other CO<sub>2</sub> problem. Pages 169-192 *Annual Review of Marine Science*.
- Ezgeta-Balic, D., M. Peharda, C. A. Richardson, M. Kuzmanic, N. Vrgoc, and I. Isajlovic. 2011. Age, growth, and population structure of the smooth clam *Callista chione* in the eastern Adriatic Sea. *Helgoland Marine Research* **65**:457-465.
- Garcia-Pichel, F. 2006. Plausible mechanisms for the boring on carbonates by microbial phototrophs. *Sedimentary Geology* **185**:205-213.
- Garcia-Pichel, F., E. Ramírez-Reinat, and Q. Gao. 2010. Microbial excavation of solid carbonates powered by P-type ATPase-mediated transcellular Ca<sup>2+</sup> transport. *PNAS* **107**:21749–21754.
- Gazeau, F., C. Quiblier, J. M. Jansen, J. P. Gattuso, J. J. Middelburg, and C. H. R. Heip. 2007. Impact of elevated CO<sub>2</sub> on shellfish calcification. *Geophysical Research Letters* **34**:1-5.
- Gektidis, M. 1999. Development of microbial euendolithic communities: The influence of light and time. *Bulletin of the Geological Society of Denmark* **45**:147-150.
- Golubic, S., I. Friedmann, and J. Schneider. 1981. The lithobiontic ecological niche, with special reference to microorganisms. *Journal of Sedimentary Petrology* **51**:475-478.
- Guinotte, J. M. and V. J. Fabry. 2008. Ocean acidification and its potential effects on marine ecosystems. *New York Academy of Sciences* **1134**:320-342.
- Hall-Spencer, J. M., R. Rodolfo-Metalpa, S. Martin, E. Ransome, M. Fine, S. M. Turner, S. J. Rowley, D. Tedesco, and M. C. Buia. 2008. Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature* **454**:96-99.

- Hall-Spencer, J. M. and R. Rodolpho-Metalpa. 2009. Using scientific diving to investigation the long-term effects of ocean acidification at CO<sub>2</sub> vents. *Freiberg Online Geology* **22**:72-76.
- Hoegh-Guldberg, O., P. J. Mumby, A. J. Hooten, R. S. Steneck, P. Greenfield, E. Gomez, C. D. Harvell, P. F. Sale, A. J. Edwards, K. Caldeira, N. Knowlton, C. M. Eakin, R. Iglesias-Prieto, N. Muthiga, R. H. Bradbury, A. Dubi, and M. E. Hatziolos. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science* **318**:1737-1742.
- IPCC. 2007. Bilan 2007 des changements climatiques : Rapport de synthèse. GIEC.
- Kleypas, J. A., R. W. Buddemeier, D. Archer, J. P. Gattuso, C. Langdon, and B. N. Opdyke. 1999. Geochemical consequences of increased atmospheric carbon dioxide on coral reefs. *Science* **284**:118-120.
- Kleypas, J. A., R. A. Feely, V. J. Frabry, C. Langdon, C. L. Sabine, and L. L. Robbins. 2006. Impacts of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers: A guide for future research. Report of workshop sponsored by NSF, NOAA and USGS:1-96.
- Kuffner, I. B., A. J. Andersson, P. L. Jokiel, K. S. Rodgers, and F. T. Mackenzie. 2008. Decreased abundance of crustose coralline algae due to ocean acidification. *Nature geoscience* **1**:114-117.
- Kurihara, H., T. Asai, S. Kato, and A. Ishimatsu. 2008. Effects of elevated *p*CO<sub>2</sub> on early development in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Biology* **4**:225-233.
- Langdon, C., T. Takahashi, C. Sweeney, D. Chipman, and J. Goddard. 2000. Effect of calcium carbonate saturation state on the calcification rate of an experimental coral reef. *Global Biogeochemical cycles* **14**:639-654.
- Langer, G., M. Geisen, K. H. Baumann, J. Klas, U. Riebesell, S. Thoms, and J. R. Young. 2006. Species-specific responses of calcifying algae to changing seawater carbonate chemistry. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **7**:1-12.
- Le Campion-Alsumard, T., S. Golubic, and P. A. Hutchings. 1995. Microbial endoliths in skeletons of live and dead corals: *Porites lobata* (Moorea, French Polynesia). **117**:149-157.
- Lescinsky, H. and B. A. Hoedt. 2008. Results of long-term bioerosion study: Belize patch reefs. *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*:26-30.
- Lombardi, C., M. C. Gambi, C. Vasapollo, P. Taylor, and S. Cocito. 2011. Skeletal alterations and polymorphism in a Mediterranean bryozoan at natural CO<sub>2</sub> vents. *Zoomorphology* **130**:135-145.



- Mao Che, L., T. Le Campion-Alsumard, C. Payri, S. Golubic, and C. Bézac. 1996. Biodegradation of shells of the black pearl oyster, *Pinctada margaritifera* var. *cumingii*, by microborers and sponges of French Polynesia. *Marine Biology* **126**:509-519.
- Martin, S., R. Rodolfo-Metalpa, E. Ransome, S. Rowley, M. C. Buia, J. P. Gattuso, and J. Hall-Spencer. 2008. Effects of naturally acidified seawater on seagrass calcareous epibionts. *Biology Letters* **4**:689-692.
- MerMexGroup, T. 2011. Marine ecosystems responses to climatic and anthropogenic forcings in the Mediterranean. *Progress in Oceanography* **91**:97-166.
- Orr, J. C., V. J. Fabry, O. Aumont, L. Bopp, S. C. Doney, R. A. Feely, A. Gnanadesikan, N. Gruber, A. Ishida, F. Joos, R. M. Key, K. Lindsay, E. Maier-Reimer, R. Matear, P. Monfray, A. Mouchet, R. G. Najjar, G. K. Plattner, K. B. Rodgers, C. L. Sabine, J. L. Sarmiento, R. Schlitzer, R. D. Slater, I. J. Totterdell, M. F. Weirig, Y. Yamanaka, and A. Yool. 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* **437**:681-686.
- Perry, C. T. 1998. Grain susceptibility to the effects of microboring: implications for the preservation of skeletal carbonates. *Sedimentology* **45**:39-51.
- Perry, C. T. 2000. Factors controlling sediment preservation on a north Jamaican fringing reef: a process-based approach to microfacies analysis. *Journal of Sedimentary Research* **70**:633-648.
- Reynaud, S., N. Leclercq, S. Romaine-Lioud, C. Ferrier-Pagés, and J. P. Gattuso. 2003. Interacting effects of CO<sub>2</sub> partial pressure and temperature on photosynthesis and calcification in a scleractinian coral. *Global Change Biology* **9**:1660-1668.
- Riebesell, U., I. Zondervan, B. Rost, P. D. Tortell, R. E. Zeebe, and F. M. Morel. 2000. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO<sub>2</sub>. *Nature* **407**:364-367.
- Rodolfo-Metalpa, R., F. Houlbreque, E. Tambutte, F. Boisson, C. Baggini, F. P. Patti, R. Jeffree, M. Fine, A. Foggo, J. P. Gattuso, and J. M. Hall-Spencer. 2011. Coral and mollusc resistance to ocean acidification adversely affected by warming. *Nature Climate Change* **1**:308-312.
- Sabine, C. L., R. A. Feely, N. Gruber, R. M. Key, K. Lee, J. L. Bullister, R. Wanninkhof, C. S. Wong, D. W. R. Wallace, B. Tilbrook, F. Millero, T. H. Peng, A. Kozyr, T. Ono, and A. F. Rios. 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO<sub>2</sub>. *Science* **305**:367-371.
- Santos, A. and E. Mayoral. 2008. Bioerosion versus colonisation on *Bivalvia*: A case study from the Upper Miocene of Cacela (southeast Portugal). *Geobios* **41**:43-59.

- Shaw, E. C., B. I. McNeil, and B. Tilbrook. 2012. Impacts of ocean acidification in naturally variable coral reef flat ecosystems. *Journal of Geophysical Research-Oceans* **117**:1-14.
- Silverman, J., B. Lazar, L. Cao, K. Caldeira, and J. Erez. 2009. Coral reefs may start dissolving when atmospheric CO<sub>2</sub> doubles. *Geophysical Research Letters* **36**:1-5.
- Tedesco, D. 1996. Chemical and isotopic investigations of fumarolic gases from Ischia island (southern Italy): Evidences of magmatic and crustal contribution. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* **74**:233-242.
- Touratier, F. and C. Goyet. 2011. Impact of the Eastern Mediterranean Transient on the distribution of anthropogenic CO<sub>2</sub> and first estimate of acidification for the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Research I* **58**:1-15.
- Tribollet, A. 2008a. The boring microflora in modern coral reef ecosystems : a review of its roles. Pages 67-94 *in* Springer, editor. *Current Developments in Bioerosion*.
- Tribollet, A. 2008b. Dissolution of dead corals by euendolithic microorganisms across the northern Great Barrier Reef (Australia). *Microb Ecol* **55**:569-580.
- Tribollet, A., M. J. Atkinson, and C. Langdon. 2006. Effects of elevated *p*CO<sub>2</sub> on epilithic and endolithic metabolism of reef carbonates. *Global Change Biology* **12**:2200-2208.
- Tribollet, A., G. Decherf, P. A. Hutchings, and M. Peyrot-Clausade. 2002. Large-scale spatial variability in bioerosion of experimental coral substrates on the Great Barrier Reef (Australia): importance of microborers. *Coral Reefs* **21**:424-432.
- Tribollet, A., C. Godinot, M. J. Atkinson, and C. Langdon. 2009. Effects of elevated *p*CO<sub>2</sub> on dissolution of coral carbonates by microbial euendoliths. *Global Biogeochemical cycles* **23**:1-7.
- Tribollet, A. and S. Golubic. 2005. Cross-shelf differences in the pattern and pace of bioerosion of experimental carbonate substrates exposed for 3 years on the northern Great Barrier Reef, Australia. *Coral Reefs* **24**:422-434.
- Tribollet, A. and S. Golubic. 2011. Reef bioerosion : agents and processes *Coral reefs: an ecosystem in transition*:435-449.
- Tribollet, A., S. Golubic, G. Radtke, and J. Reitner. 2011. On Microbiocorrosion. *Earth and Environmental Science* **131**:265-276.
- Vogel, K., M. Gektidis, S. Golubic, W. E. Kiene, and G. Radtke. 2000. Experimental studies on microbial bioerosion at Lee Stocking Island, Bahamas and One Tree Island, Great Barrier Reef, Australia: implications for paleoecological reconstructions. *Lethaia* **33**:190-204.

- Wisshak, M. 2008. Two new dwarf *Entobia* ichnospecies in a diverse aphotic ichnocoenosis (Pleistocene/Rhodes, Greece). Pages 213-233 *in* Springer, editor. Current Developments in Bioerosion.
- Wisshak, M. and J. David. 2006. The new Ichnogenus *Flagrichnus* —A paleoenvironmental indicator for cold-water settings? *Ichnos: An International Journal for Plant and Animal Traces* **13**:135-145.
- Wisshak, M., M. Gektidis, A. Freiwald, and T. Lundalv. 2005. Bioerosion along a bathymetric gradient in a cold-temperate setting (Kosterfjord, SW Sweden): an experimental study. *Facies* **51**:93-117.
- Wisshak, M., A. Tribollet, S. Golubic, J. Jakobsen, and A. Freiwald. 2011. Temperate bioerosion: ichnodiversity and biodiversity from intertidal to bathyal depths (Azores). *Geobiology* **9**:492-520.

# Annexe 1

Tableau des paramètres environnementaux mesurés par Rodolpho-Metalpa et *al.* (2011) en 2008 au niveau de chaque site : température (T, °C), pH, alcalinité totale ( $A_T$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), pression partielle en  $\text{CO}_2$  ( $p\text{CO}_2$ ,  $\mu\text{Atm}$ ), concentration en dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), en carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), en bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), et en carbone total ( $C_T$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), saturation en calcite ( $\Omega_c$ ) et saturation en aragonite ( $\Omega_a$ ). (D'après Rodolpho-Metalpa et *al.* (2011))

Date	T (°C)	pH <sub>T</sub>	$A_T$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$p\text{CO}_2$ $\mu\text{atm}$	$\text{CO}_2$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$\text{CO}_3^{2-}$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$\text{HCO}_3^-$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$C_T$ $\text{Mmol.kg}^{-1}$	$\Omega_c$	$\Omega_a$
<b>Site C</b>										
2008-03-27	14.8	8.15	2568	338	12	237	1999	2248	5.52	3.56
2008-03-28	14.7	8.09	-	400	15	212	2061	2288	4.94	3.18
2008-03-29	14.8	7.99	2599	525	19	176	2148	2343	4.10	2.64
2008-04-10	15.7	8.00	2550	511	18	185	2126	2329	4.32	2.79
2008-04-11	15.7	8.01	2578	497	18	188	2117	2323	4.40	2.84
2008-04-12	16.0	8.15	2568	337	12	246	1978	2236	5.74	3.71
2008-05-06	19.9	8.15	2579	333	11	277	1904	2192	6.49	4.23
2008-05-08	20.0	8.09	2571	395	13	251	1969	2233	5.86	3.82
2008-05-10	20.7	8.09	2581	394	12	256	1956	2224	5.99	3.92
2008-05-11	20.7	8.02	2596	481	15	226	2029	2270	5.29	3.46
2008-05-12	22.5	8.14	2563	338	10	294	1865	2169	6.89	3.53
2008-05-16	19.0	7.97	2609	553	18	195	2103	2316	4.56	2.97
2008-05-18	18.6	8.15	2614	335	11	267	1929	2207	6.23	4.05
2008-05-19	19.3	8.15	-	334	11	272	1916	2199	6.37	4.14
2008-05-20	19.8	8.06	2576	431	14	236	2004	2254	5.53	3.60
2008-06-23	24.5	7.95	2550	577	16	224	2036	2276	5.26	3.48
2008-06-24	25.7	7.98	2589	528	14	246	1985	2245	5.88	3.83
2008-06-25	26.3	8.06	-	418	11	287	1885	2183	6.75	4.48
2008-06-28	26.0	7.95	2545	574	16	235	2011	2262	5.52	3.66
2008-06-29	25.7	8.11	2578	362	10	307	1837	2154	7.20	4.77
2008-06-30	25.9	8.14	2586	330	9	324	1796	2129	7.60	5.04
2008-09-17	25.7	7.97	2588	543	15	241	1996	2252	5.67	3.76
2008-10-26	22.1	8.12	2568	359	11	281	1896	2188	6.59	4.32
<b>Site S1</b>										
2008-03-27	15.0	7.10	2567	4768	175	27	2510	2712	0.62	0.40
2008-03-28	14.6	7.89	2587	684	25	143	2226	2394	3.35	2.16
2008-03-29	14.8	7.65	2557	1262	46	88	2360	2494	2.06	1.33
2008-04-10	15.7	7.80	2559	866	31	125	2272	2428	2.91	1.88
2008-04-11	15.6	7.35	2588	2638	95	48	2459	2602	1.11	0.72
2008-04-12	15.8	7.19	2570	3872	139	34	2493	2666	0.79	0.51
2008-05-06	19.9	7.95	2580	584	18	194	2107	2319	4.53	2.95
2008-05-08	20.0	7.28	2585	3188	101	48	2458	2607	1.13	0.74
2008-05-10	20.7	7.50	2561	1868	58	80	2382	2520	1.88	1.23
2008-05-11	20.7	7.32	2585	2902	90	54	2444	2588	1.27	0.83
2008-05-12	22.2	7.42	2507	2284	68	71	2403	2542	1.67	1.10
2008-05-16	18.4	7.65	2606	1277	42	101	2331	2474	2.36	1.53
2008-05-18	18.7	7.89	2601	687	22	176	2174	2372	3.88	2.52
2008-05-19	19.1	7.75	2558	991	32	127	2268	2427	2.98	1.94
2008-05-20	19.8	7.71	-	1099	35	120	2285	2440	2.81	1.83
2008-06-23	24.3	7.49	-	1928	55	89	2361	2505	2.10	1.39
2008-06-24	25.9	7.49	2576	1931	52	95	2349	2496	2.23	1.48
2008-06-25	26.2	7.77	2589	938	25	169	2171	2365	3.97	2.63
2008-06-28	25.9	7.89	2599	678	18	210	2072	2300	4.93	3.27
2008-06-29	25.5	7.50	-	1883	52	95	2347	2494	2.24	1.48
2008-06-30	25.8	7.72	2576	1071	29	151	2213	2393	3.55	2.35
2008-09-17	25.8	7.83	2576	799	22	187	2127	2336	4.39	2.91
2008-10-26	22.0	7.63	-	1352	41	110	2310	2461	2.59	1.70

Date	T (°C)	pH <sub>T</sub>	A <sub>T</sub> μmol kg <sup>-1</sup>	pCO <sub>2</sub> μatm	CO <sub>2</sub> μmol kg <sup>-1</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> μmol kg <sup>-1</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> μmol kg <sup>-1</sup>	C <sub>T</sub> Mmol kg <sup>-1</sup>	Ω <sub>c</sub>	Ω <sub>a</sub>
Site S2										
2008-03-27	14.8	8.01	-	497	18	183	211	2332	4.27	2.75
2008-03-28	14.7	7.98	-	539	20	172	2157	2349	4.02	2.59
2008-03-29	14.6	7.77	-	932	34	112	2301	2447	2.63	1.69
2008-04-10	15.2	7.58	2552	1504	55	77	2387	2519	1.79	1.15
2008-04-11	15.7	8.02	2580	484	17	192	2109	2318	4.49	2.90
2008-04-12	16.2	7.58	2555	1510	53	80	2380	2513	1.86	1.20
2008-05-06	19.9	8.07	2578	419	13	141	1992	2146	5.65	3.68
2008-05-08	20.4	7.81	2587	849	27	150	2213	2390	3.53	2.31
2008-05-10	20.4	7.84	2586	784	24	159	2191	2374	3.75	2.44
2008-05-11	20.5	7.96	2590	568	18	201	2089	2308	4.74	3.09
2008-05-12	22.6	8.14	2557	338	10	195	1863	2068	6.86	4.51
2008-05-16	18.3	7.92	2603	634	21	173	2156	2350	4.10	2.66
2008-05-18	18.7	8.07	2592	420	14	232	2013	2259	5.47	3.55
2008-05-19	19.1	8.04	2554	456	15	223	2036	2274	5.17	3.36
2008-05-20	19.9	7.98	2601	538	17	205	2080	2302	4.84	3.16
2008-06-23	24.3	7.67	2579	1222	34	130	2264	2428	3.05	2.01
2008-06-24	25.7	7.68	-	1189	32	139	2242	2413	3.27	2.17
2008-06-25	25.9	7.57	-	1578	43	112	2307	2462	2.63	1.75
2008-06-28	25.9	7.81	2588	843	23	181	2142	2346	4.27	2.83
2008-06-29	25.9	7.64	2545	1319	36	129	2266	2431	3.00	1.99
2008-06-30	26.0	7.22	2585	3749	102	53	2448	2603	1.26	0.83
2008-09-17	25.8	7.99	2572	513	14	250	1973	2237	5.89	3.91
2008-10-26	22.0	7.91	-	649	19	192	2112	2323	4.51	2.95



## Annexe 2

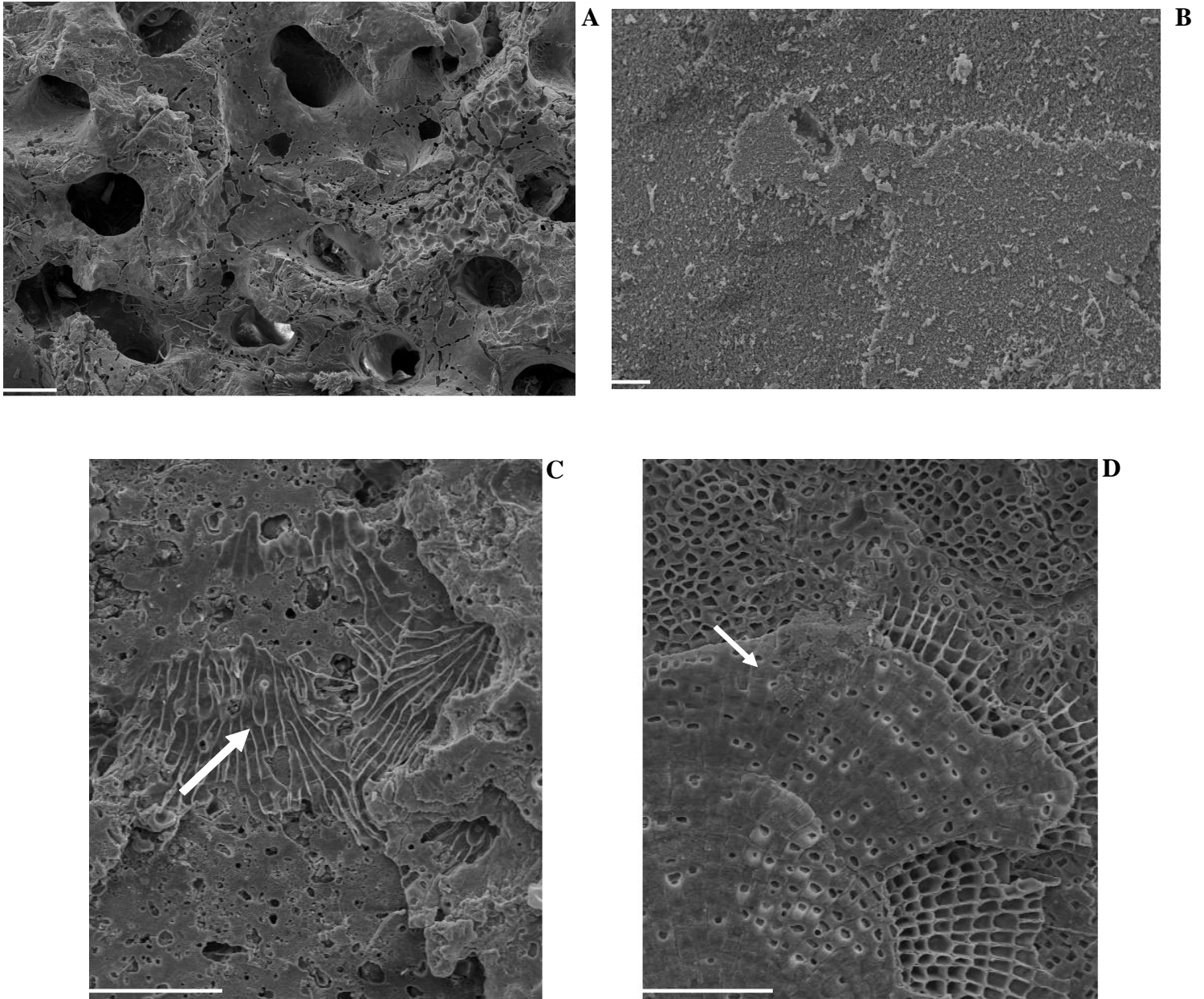
Tableau des paramètres environnementaux mesurés par Rodolpho-Metalpa et *al.* (2011) en 2009 au niveau de chaque site : température (T, °C), pH, alcalinité totale ( $A_T$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), pression partielle en  $\text{CO}_2$  ( $p\text{CO}_2$ ,  $\mu\text{Atm}$ ), concentration en dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), en carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), en bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), et en carbone total ( $C_T$ ,  $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ ), saturation en calcite ( $\Omega_c$ ) et saturation en aragonite ( $\Omega_a$ ). (D'après Rodolpho-Metalpa et *al.* (2011))

Date	T (°C)	pH <sub>T</sub>	$A_T$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$p\text{CO}_2$ $\mu\text{atm}$	$\text{CO}_2$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$\text{CO}_3^{2-}$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$\text{HCO}_3^-$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$C_T$ $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	$\Omega_c$	$\Omega_a$
<b>Site C</b>										
2009-03-03	13.0	8.07	-	418	16	193	2103	2312	4.51	2.90
2009-03-04	13.0	8.01	2563	492	19	172	2153	2344	4.03	2.58
2009-04-22	17.7	8.05	2552	437	15	219	2043	2277	5.12	3.32
2009-04-24	18.5	7.94	-	597	20	182	2133	2335	4.27	2.77
2009-04-26	18.6	7.96	2599	566	19	190	2115	2324	4.43	2.88
2009-05-01	18.9	8.02	-	482	16	213	2058	2287	4.99	3.24
2009-05-02	18.0	8.08	2588	401	13	234	2007	2254	5.47	3.55
2009-05-04	18.0	8.02	-	476	16	209	2067	2292	4.89	3.17
2009-06-05	22.0	8.02	-	482	14	234	2009	2257	5.48	3.60
2009-06-06	23.2	8.03	2562	463	13	249	1975	2237	5.83	3.84
2009-06-07	22.7	8.04	2570	452	13	249	1974	2236	5.83	3.83
2009-07-08	25.0	8.02	-	467	13	300	1949	2262	6.10	4.03
2009-07-09	25.9	8.00	-	484	13	260	1949	2222	6.12	4.06
2009-07-10	26.3	7.96	2587	557	15	241	1995	2251	5.67	3.77
2009-07-12	26.1	7.97	2571	542	15	244	1988	2247	5.74	3.81
2009-09-23	24.6	8.00	-	498	14	272	1980	2266	5.80	3.83
2009-09-24	22.9	8.03	2579	457	13	249	1975	2237	5.83	3.83
2009-09-25	24.4	8.09	2606	383	11	287	1882	2180	6.74	4.45
2009-09-28	24.4	8.07	-	407	11	278	1905	2194	6.51	4.30
2009-10-28	20.0	8.09	-	395	12	251	1968	2231	5.86	3.82
<b>Site S1</b>										
2009-03-03	13.0	7.43	2585	2142	84	51	2449	2584	1.20	0.77
2009-03-04	13.0	7.74	-	999	39	99	2331	2469	2.32	1.49
2009-04-22	17.9	7.12	2568	4624	156	31	2498	2685	0.73	0.47
2009-04-24	18.5	6.76	2585	10809	358	14	2540	2912	0.35	0.22
2009-04-26	17.4	7.35	2611	2662	91	51	2450	2592	1.19	0.77
2009-05-01	18.3	7.19	-	3923	131	37	2484	2652	0.87	0.56
2009-05-02	18.0	7.74	-	1015	34	120	2284	2438	2.80	1.82
2009-05-04	18.5	6.56	2568	17216	570	9	2552	3131	0.21	0.14
2009-06-05	18.0	6.57	-	16771	563	9	2552	3124	0.21	0.14
2009-06-06	18.5	7.64	2507	1309	43	99	2334	2476	2.32	1.51
2009-06-07	22.1	7.83	-	804	24	166	2176	2366	2.88	2.54
2009-07-08	22.2	7.64	2601	1318	39	113	2301	2453	2.66	1.74
2009-07-09	22.6	7.65	2567	1285	38	118	2292	2448	2.75	1.81
2009-07-10	25.8	7.38	-	2536	69	75	2395	2539	1.76	1.16
2009-07-12	26.1	7.32	-	2940	80	66	2415	2561	1.56	1.04
2009-09-23	25.5	6.57	2550	17378	478	12	2545	3035	0.29	0.19
2009-09-24	24.7	6.90	2578	8005	225	25	2515	2765	0.58	0.39
2009-09-25	22.9	7.16	2558	4294	126	42	2474	2642	0.97	0.64
2009-09-28	24.4	7.03	-	5881	166	33	2495	2694	0.77	1.51
2009-10-28	24.9	7.45	-	2131	59	84	2373	2516	1.97	1.30



Date	T (°C)	pH <sub>T</sub>	A <sub>T</sub> μmol kg <sup>-1</sup>	pCO <sub>2</sub> μatm	CO <sub>2</sub> μmol kg <sup>-1</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> μmol kg <sup>-1</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> μmol kg <sup>-1</sup>	C <sub>T</sub> Mmol kg <sup>-1</sup>	Ω <sub>c</sub>	Ω <sub>a</sub>
Site S2										
2009-03-03	13.0	7.84	-	774	30	122	2256	2408	2.86	1.83
2009-03-04	13.0	7.89	-	680	27	135	2244	2406	3.16	2.03
2009-04-22	17.6	7.68	2557	1181	40	104	2321	2465	2.44	1.58
2009-04-24	18.6	6.84	-	8971	296	17	2533	2846	0.40	0.26
2009-04-26	18.2	7.81	2559	847	28	139	2238	2405	3.25	2.11
2009-05-01	18.0	7.88	-	705	24	159	2190	2373	3.71	2.41
2009-05-02	18.4	6.80	2563	9840	327	15	2537	2879	0.36	0.24
2009-05-04	18.1	6.66	2545	13613	456	11	2547	3014	0.26	0.17
2009-06-05	18.5	7.75	-	990	33	125	2273	2431	2.91	1.89
2009-06-06	22.8	7.74	2578	1019	30	142	2233	2405	3.33	2.19
2009-06-07	22.6	7.82	2579	825	24	165	2177	2366	3.87	2.54
2009-07-08	25.0	7.33	2571	2864	80	65	2426	2563	1.53	1.01
2009-07-09	25.8	7.49	-	1930	53	94	2360	2495	2.22	1.47
2009-07-10	26.0	7.45	2596	2133	58	87	2376	2476	2.05	1.36
2009-07-12	25.1	6.71	-	12518	348	16	2537	2941	0.39	0.26
2009-09-23	24.8	7.18	2581	4116	115	43	2463	2926	1.09	0.72
2009-09-24	23.1	7.53	-	1742	51	93	2350	2494	2.18	1.44
2009-09-25	24.7	7.30	2586	3079	86	60	2435	2581	1.42	0.94
2009-09-28	24.2	7.77	2588	941	27	158	2195	2380	3.71	2.45
2009-10-28	20.0	6.97	-	6600	212	24	2516	2751	0.57	0.37

## Annexe 3



Photographies prises au microscope électronique à balayage illustrant l'effet "patch" de la bioérosion sur *Porites lobata* (A, barre d'échelle = 100  $\mu$ m), la dissolution chimique sur *Callista chione* au niveau des sites S1 et S2 (B, barre d'échelle = 20 $\mu$ m), la présence d'algues encroûtantes (C, barre d'échelle = 100 $\mu$ m) et de bryozoaires (D, barre d'échelle = 100 $\mu$ m) au niveau du site C sur *Callista chione*.

## Annexe 4

Tableau comparatif de l'étude de Tribollet et *al.* (2009) et de la présente étude des conditions d'exposition (pH, pression partielle en dioxyde de carbone ( $p\text{CO}_2$  en ppm)) de la microflore perforante dans les substrats et des principaux résultats (profondeur du maximum d'abondance des filaments de microperforants (Pma en  $\mu\text{m}$ ), profondeur maximale de pénétration des filaments perforants (Pmp en  $\mu\text{m}$ ), surface bioérodée des substrats par la microflore perforante (%) et taux de bioérosion des microperforants ( $\text{g de CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ )).

	Tribollet et <i>al.</i> (2009)		Ce travail		
Substrats	<i>Porites lobata</i>		<i>Callista chione</i>		
Conditions	C	« test »	C	S1	S2
<b>pH</b>	$8,2 \pm 0$	$7,9 \pm 0$	$8,02 \pm 0,03$	$7,24 \pm 0,35$	$7,44 \pm 0,8$
<b><math>p\text{CO}_2</math></b> (ppm)	$436 \pm 90$	$758 \pm 111$	$477 \pm 43$	$5574 \pm 4485$	$3619 \pm 3259$
<b>Pma</b> ( $\mu\text{m}$ )	$100 \pm 50$	$100 \pm 60$	$42 \pm 6$	$28 \pm 4^a$	$29 \pm 7^a$
<b>Pmp</b> ( $\mu\text{m}$ )	$4170 \pm 730$	$4910 \pm 670^a$	$127 \pm 7$	$46 \pm 12^a$	$55 \pm 21^a$
<b>Surface bioérodée</b> (%)	$26,8 \pm 6$	$26,7 \pm 6$	$26,9 \pm 10,4$	$7,1 \pm 5,5^a$	$10,4 \pm 8,5^a$
<b>Taux de bioérosion</b> ( $\text{g CaCO}_3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ )	310	460	$8,5 \pm 3,3$	$1,5 \pm 1,2^a$	$2,5 \pm 2,3^a$

<sup>a</sup> statistiquement différent de C

Julie GRANGE

Student internship report of Master of Sciences of Universe, Environment, Ecology degree 2  
speciality Oceanography and Marine Environment – UPMC - 2012

« **Effect of *in situ* acidification on the boring microflora of aragonitic substrates** »

**Keywords :** acidification, boring microflora, bioerosion, aragonitic substrates, Ischia

## Abstract

Up to now, the impact of acidification on the boring microflora of calcifying organisms has only been addressed by Tribollet *et al.* (2009), in a short-term laboratory experiment. The study by Tribollet *et al.* (2009) is the first to show an accelerated weathering of limestone substrates by boring microflora when exposed to high partial pressure of carbon dioxide (750 ppm). The present study aims to investigate the impact of acidification on the microflora of two aragonitic substrates in volcanic carbon dioxide vents in Ischia in Italy. Three sites were selected along a gradient of pH and other environmental data (reported by Rodolpho-Metalpa *et al.* (2011)): a control site (C; pH = 8.02, close to current seawater pH), a S1 site (pH = 7.24) and a S2 site (pH = 7.44). To highlight the impact of ocean acidification on these micro-organisms, their species diversity was determined and several biological parameters were measured. These data were obtained through the realization of thin sections, which were observed under an optical microscope, and selected observations made with scanning electron microscopy. The results of this study are contradictory to the reference study. Indeed, for low pH rate of carbonate dissolution seems slow. To explain the opposition of the two main studies we hypothesize that there is a pH threshold at which bioerosion by boring microflora is slowed. A study on a pH gradient ranging from 8.1 to 7 with increments of 0.1 or 0.2 pH units would help to better understand the influence of ocean acidification on boring microflora. .

---

Julie GRANGE

Rapport de Stage de Master 2 Sciences de l'Univers, Environnement, Ecologie  
Spécialité Océanographie et Environnement Marin – UPMC - 2012

« **Effet *in situ* de l'acidification sur la microflore perforante de substrats aragonitiques** »

**Mots Clés :** acidification, microflore perforante, bioérosion, substrats aragonitiques, Ischia.

## Résumé

L'impact de l'acidification sur les microperforants des organismes calcifiants n'a été abordé pour le moment que par Tribollet *et al.* (2009) lors d'une expérience réalisée à court terme et en aquarium. Cette étude a montré une accélération de l'altération des substrats calcaires par la microflore perforante lors d'une exposition à une forte pression partielle en dioxyde de carbone (750 ppm). L'étude présentée ici a pour objectif d'étudier l'impact de l'acidification sur la microflore perforante de deux substrats aragonitiques en milieu naturel, au niveau de résurgences de CO<sub>2</sub> à Ischia en Italie. Trois sites ont été sélectionnés selon un gradient de pH et en se basant sur les données environnementales (de ces mêmes sites) de 2008 rapportées par Rodolpho-Metalpa *et al.* (2011) : un site contrôle (C) (pH = 8,02, proche du pH océanique actuel), un site S1 (pH = 7,24) et un site S2 (pH = 7,44). Afin de mettre en évidence l'impact de l'acidification de l'eau de mer sur ces micro-organismes, plusieurs paramètres biologiques ont été mesurés et leur diversité spécifique a été déterminée. Ces données ont été obtenues grâce à la réalisation de lames minces qui ont été observées au microscope optique et à des observations faites au microscope électronique à balayage. Les résultats de cette étude vont dans le sens contraire de l'étude de référence. En effet, pour des pH faibles l'activité bioérosive semble ralentie. Pour expliquer l'opposition des deux études une des principales hypothèses est qu'il existe un seuil de pH à partir duquel la microbioérosion est ralentie. Une étude réalisée selon un gradient de pH allant de 8,1 à 7 passants par des paliers de 0,1 ou 0,2 unité pH permettrait de mieux appréhender les résultats des deux études et ainsi d'aller plus loin dans les conclusions.